

Mara Lamas dos Santos

Fitocompostos com atividade antineoplásica – paclitaxel e seus derivados

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2013

Mara Lamas dos Santos

**Fitocompostos com atividade antineoplásica – paclitaxel e seus
derivados**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2013

Fitocompostos com atividade antineoplásica – paclitaxel e seus derivados

Dissertação apresentada à Universidade Fernando
Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do
grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador(a):

Professora Doutora Rita Catarino

Coorientador(a):

Professora Doutora Renata Souto

Porto, 2013

Resumo

Apesar do considerável investimento que tem sido feito nesta área, as doenças de foro oncológico constituem uma das principais causas de morte a nível mundial.

De entre os antineoplásicos mais usados na clínica, destacam-se os de origem natural (ou derivados de produtos naturais), nomeadamente os obtidos a partir plantas. De fato, as plantas produzem uma enorme quantidade de metabolitos, muitos dos quais apresentam efeitos farmacológicos interessantes.

O paclitaxel (Taxol[®]) é um alcaloide diterpénico isolado da casca do *Taxus brevifolia* que apresenta uma potente ação antineoplásica, resultante do seu efeito anti-mitótico. Este fármaco, a par com alguns dos seus derivados (nomeadamente o docetaxel), é atualmente um citostático de eleição no tratamento de vários tumores, tais como o cancro do ovário, da mama, do pulmão de não-pequenas células, da cabeça e pescoço e sarcoma de Kaposi's.

No entanto, o uso de taxanos na clínica tem vindo a ser limitado devido reações de hipersensibilidade e reações de toxicidade decorrentes da formulação e, ainda, devido ao aparecimento de resistências por parte de algumas células tumorais.

Mais recentemente, têm vindo a ser desenvolvidos novos análogos do paclitaxel, e novas formulações deste princípio ativo baseadas nomeadamente na nanotecnologia, cujo objetivo é aumentar a tolerabilidade e diminuir a resistência clínica provocada pelos taxanos clássicos.

O presente trabalho monográfico visa reunir informações acerca das características do fármaco paclitaxel, designadamente no que concerne à sua descoberta, mecanismo de ação e principais efeitos secundários decorrentes do seu uso. Adicionalmente, pretende-se referir os recentes progressos no desenvolvimento dos novos análogos e de novas formulações.

Palavras-chave: paclitaxel, agentes estabilizadores dos microtúbulos, análogos do paclitaxel, novas formulações.

Abstract

Despite the considerable investment made in this area, cancers are a major cause of death worldwide.

Antineoplastic of natural origin (or their derivatives), namely those obtained from plants, are among the most common anticancer agents used in clinical practice.. In fact, plants produce an enormous amount of metabolites, many of which exhibit interesting pharmacological effects. Paclitaxel (Taxol[®]) is a diterpene alkaloid isolated from the bark of *Taxus brevifolia*, which has a potent anticancer action, due to its anti-mitotic effect. This drug, such as some of its derivatives (such as docetaxel) is now a cytostatic agent of choice in the treatment of several tumors such as ovarian, breast, non-small lung carcinoma cells, head and neck, and Kaposi's sarcoma.

However, the use of taxanes in clinical practice has been limited because of hypersensitivity and toxicity reactions caused the formulations and the development of resistance by some tumor cells.

More recently, some new analogues of paclitaxel and new formulations of this particular active ingredient based on nanotechnology have been developed, with the aim of improving tolerability and decreasing resistance caused by classical taxanes.

This work aims to collect information about the characteristics of the drug paclitaxel, namely its discovery, mechanism of action and major side effects resulting from its use. Additionally, it intends to refer to the recent progress in the development of novel analogs and formulations, as well as potential new drug applications.

Keywords: paclitaxel, paclitaxel derivatives, cancer, anticancer activity, new formulations, new applications

Índice

Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	vii
Lista de abreviaturas	viii
I. Introdução	1
II. Paclitaxel	8
II.1 Perspetiva histórica	8
II.2 Atividade antineoplásica do paclitaxel e aplicações clínicas	10
II.3 Processo de obtenção do paclitaxel	11
II.4 Mecanismo de ação	12
II.5 Relação estrutura-atividade	15
i. Hemisfério norte (posições 7, 9, 10 e dupla em C11-C12)	16
ii. Anel oxetano	17
iii. Hemisfério sul (posições 1, 2 e 4)	18
iv. Cadeia lateral em C13	19
II.6 Restrições do seu uso	20
III. Análogos do paclitaxel	21
III.1 BMS-184476	23
III.2 DJ-927 (Tasetaxel)	23
III.3 BMS-275183	25
III.4 Ortataxel (BAY 59-8862, IDN-5109)	25
III.5 Larotaxel (XRP9881, RPR 109881A)	26
III.6 Cabazitaxel (Jevtana [®] , XRP6258)	27
IV. Novos sistemas de entrega dos taxanos clássicos	31
IV.1 Nanopartículas de albumina ligada ao paclitaxel (Abraxane [®])	31
IV.2 Paclitaxel polyglumex (PPX)	32

IV.3 DHA-paclitaxel (Taxoprexin [®])	34
IV.4 GRN1005 (ANG1005)	35
IV.5 Sistema micelar polimérico contendo paclitaxel (Genexol-PM [®])	36
IV.6 Lipossomas encapsulados com paclitaxel (LEP-ETU, EndoTAG-I e Lipusu [®]).....	37
IV.7 Emulsão de paclitaxel em vitamina E (Tocosol).....	38
IV.8 Microesferas (Paclimer)	39
IV.9 BIND-014.....	39
V. Conclusão	42
Bibliografia.....	44

Índice de figuras

Figura 1: Tipos de cancro com maior incidência e mortalidade na população portuguesa.....	3
Figura 2: Os dez tipos de cancro mais comuns em Portugal em 2008: estimativas do número de novos casos e do número de mortes, por sexo.....	3
Figura 3: Projeções para Portugal em termos de incidência de neoplasias para 2030, relativamente a dados estatísticos revelados em 2008.....	4
Figura 4: Estrutura base dos alcaloides de vinca (a), das lignanas epipodofilotoxinas (b), do composto paclitaxel (c) e dos alcaloides derivados da camptotecina (d)	7
Figura 5: Estrutura química da 10-desacetilbacatina-III.	11
Figura 6: Estrutura química do docetaxel.	12
Figura 7: Estrutura dos microtúbulos	14
Figura 8: Estrutura química do paclitaxel com a respetiva identificação dos anéis e com numeração parcial.....	16
Figura 9: Análogos do paclitaxel obtidos por modificação no anel oxetano.	17
Figura 10: Análogo tietano com um átomo de enxofre no oxetano.	18
Figura 11: Estrutura de um análogo do paclitaxel com um substituinte <i>p</i> -azido (a) e com um substituinte <i>m</i> -azido (b) no anel benzoílo do C-2.....	19
Figura 12: Breve resumo da relação estrutura atividade do paclitaxel.	20
Figura 13: Comparação da estrutura química do taxol e do docetaxel, com as respetivas diferenças do grupo do C-10 e do grupo C-3'	22
Figura 14: Estrutura química do BMS-184476.	23
Figura 15: Estrutura química do DJ-927	24
Figura 16: Estrutura química do BMS-275183.	25
Figura 17: Estrutura química do ortataxel.....	26
Figura 18: Estrutura química do larotaxel.....	27
Figura 19: Estrutura química do cabazitaxel com os dois grupos metoxilo na posição C7 e C10	28
Figura 20: Representação esquemática do paclitaxel polyglumex (PPX).....	33
Figura 21: Estrutura química do DHA-paclitaxel	34
Figura 22: Estrutura química do GRN1005.	35

Índice de tabelas

Tabela 1: Os principais análogos e as suas vantagens face ao paclitaxel.....30

Tabela 2: Novos sistemas de entrega dos taxanos41

Lista de abreviaturas

ACS Sociedade Americana do Cancro, do inglês *American Cancer Society*

Bcl-2 Linfoma de células B2, do inglês *B-Cells Lymphoma 2*

CPNPC Cancro do pulmão de não-pequenas células

Cremophor EL Óleo de Ricínio polietoxilado, do inglês *Polyethoxylated Castor Oil*

DHA Ácido docosaheptaenóico

DNA Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic Acid*

EMA Agência Europeia do Medicamento, do inglês *European Medicines Agency*

FDA Administração Federal de Alimentos e Medicamentos, do inglês *Food and Drug Administration*

GDP Guanosina Difosfato, do inglês *Guanosine Diphosphate*

GTP Guanosina Trifosfato, do inglês *Guanosine Triphosphate*

IARC Agência Internacional na Pesquisa do Cancro, do inglês *International Agency For Research On Cancer*

LEP Paclitaxel Encapsulado em Lipossomas, do inglês *Liposome Entrapped Paclitaxel*

MAP's Proteínas Associadas a Microtúbulos, do inglês, *Microtubule Associated Proteins*

MDR-1 Gene que confere resistência-1 a múltiplos fármacos, do inglês *Multidrug Resistance Protein 1*

MSA's Agentes Estabilizadores de Microtúbulos, do inglês *Microtubule-Stabilizing Agents*

NCI Instituto Nacional do Cancro dos Estados Unidos da América, do inglês *National Cancer Institute*

PEG poli- (etileno glicol)

P-gp Glicoproteína P, do inglês *Glycoprotein- P*

RNA Ácido ribonucleico, do inglês *Ribonucleic Acid*

RTI Instituto Triângulo de Pesquisa, do inglês *Research Triangle Institute*

SIDA Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC Sistema Nervoso Central

TROPIC Tratamento do Cancro da Próstata Hormônio-Refractário Metastizado em Doentes Tratados Previamente Tratados com Docetaxel, do inglês *Treatment of Hormone-Refractory Metastatic Prostate Cancer Previously Treated with Docetaxel*

USDA Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América, do inglês, *United States Department of Agriculture*

WHO Organização Mundial de Saúde, do inglês *World Health Organization*

I. Introdução

O cancro, denominação comum de neoplasia maligna, é uma patologia caracterizada pelo desenvolvimento acelerado e a proliferação de células anómalas que invadem e destroem tecidos adjacentes. As referidas células podem, ainda, espalhar-se para qualquer zona do corpo, através de um processo designado metástase (WHO, 2012).

São várias as causas relacionadas com o aparecimento do cancro: fatores genéticos, estilos de vida adquiridos (tabaco, dieta e sedentarismo), certas infeções e a frequente exposição a radiações e/ou a químicos. Inúmeros cancros podem ser prevenidos, evitando de alguma forma a exposição a alguns dos fatores aqui descritos, como por exemplo o fumo do tabaco (ACS, 2013; WHO, 2012).

Apesar dos esforços consideráveis no domínio da investigação e do tratamento, o cancro continua a ser, sem dúvida, um grave problema de saúde pública. Hoje em dia, constitui a segunda principal causa de mortalidade nos países desenvolvidos, depois das doenças cardiovasculares, e é uma das principais causas de morbilidade (Bray, 2012; WHO, 2008; WHO, 2002). Através de evidências epidemiológicas é esperada uma tendência semelhante nos países em desenvolvimento (Bray, 2012; WHO, 2008; WHO, 2002).

As estatísticas divulgadas pela Organização Mundial de Saúde (WHO, do inglês, *World Health Organization*) em 2008 revelaram que foram diagnosticados 12,7 milhões de novos casos de cancro em todo o mundo, o que conduziu à morte de 7,6 milhões de pessoas (WHO, 2012).

A nível mundial, os cinco cancros com maior taxa de mortalidade são, por ordem decrescente, o do pulmão (1,37 milhões de mortes por ano), estômago (736 000 mortes por ano), fígado (695 000 mortes por ano), cólon-rectal (608 000 mortes por ano) e o da mama (com 608 000 mortes por ano). Aproximadamente 70% das mortes por cancro ocorrem em países em vias de desenvolvimento. Embora a incidência das neoplasias nestes países, seja mais baixa, os diagnósticos são, por norma, mais tardios, o que se traduz numa taxa de sobrevivência mais baixa (WHO, 2012; INCTR, 2013).

A agência de estatística GLOBOCAN/IARC estima que em 2030 vão ser diagnosticados aproximadamente 22 milhões de novos casos de cancro (um aumento de

69% dos dados observados em 2008: 12,7 milhões) em todo o mundo o que irá provocar a morte a 13 milhões de pessoas por ano (um aumento de 72% dos dados observados em 2008: 7,6 milhões), com maior incidência nos países em vias de desenvolvimento (GLOBOCAN,2008).

Na Europa esta patologia, também é considerada a segunda causa de morte, com maior prevalência no sexo masculino. Em 2008, foram diagnosticados 2,5 milhões de novos casos de cancro. Além disso, prevê-se que com o crescente envelhecimento da população na União Europeia haja uma maior propensão para o aumento do número de mortes de cancro (GLOBOCAN, 2008; European Commission, 2012).

Os cancros mais comuns na União Europeia, são os cancros cólon-rectal, mama, próstata e pulmão. O cancro do pulmão é o maior causador de mortes no género masculino enquanto, no género feminino é o cancro da mama. Todavia, o cancro do cólon é a segunda maior causa de morte em ambos os géneros (European Commission, 2012).

Dados estatísticos revelados pela GLOBOCAN em 2008, mencionam que em Portugal por ano surgem 43,3 mil novos casos de cancro e cerca de 24,3 mil pessoas morrem devido a esta doença. A nível nacional dos cancros mais incidentes destacam-se: o cancro cólon-rectal, seguindo-se o cancro da mama, o da próstata, o do pulmão e o cancro do estômago em ambos os sexos (Figura 1) (GLOBOCAN, 2008).

Em Portugal, o cancro da próstata é o cancro mais frequente no sexo masculino, seguido do cólon-rectal e do pulmão. Relativamente ao sexo feminino, os tipos de neoplasias mais frequentes são: o cancro da mama, seguindo-se o cancro cólon-rectal e o cancro do estômago (Figura 2) (GLOBOCAN, 2008).

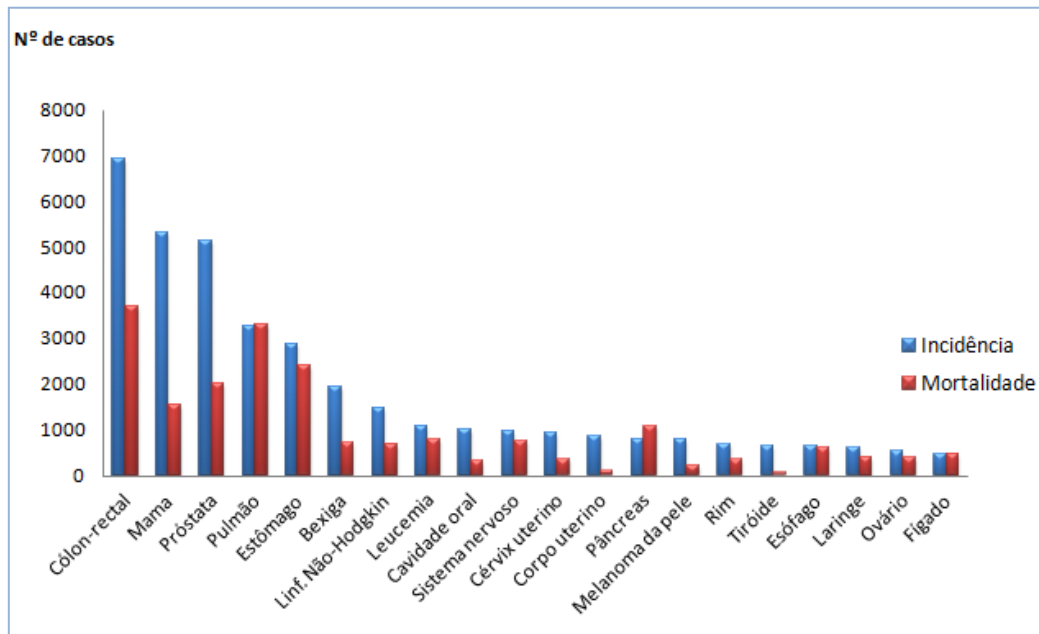


Figura 1: Tipos de cancro com maior incidência e mortalidade na população portuguesa (adaptado de GLOBOCAN 2008).

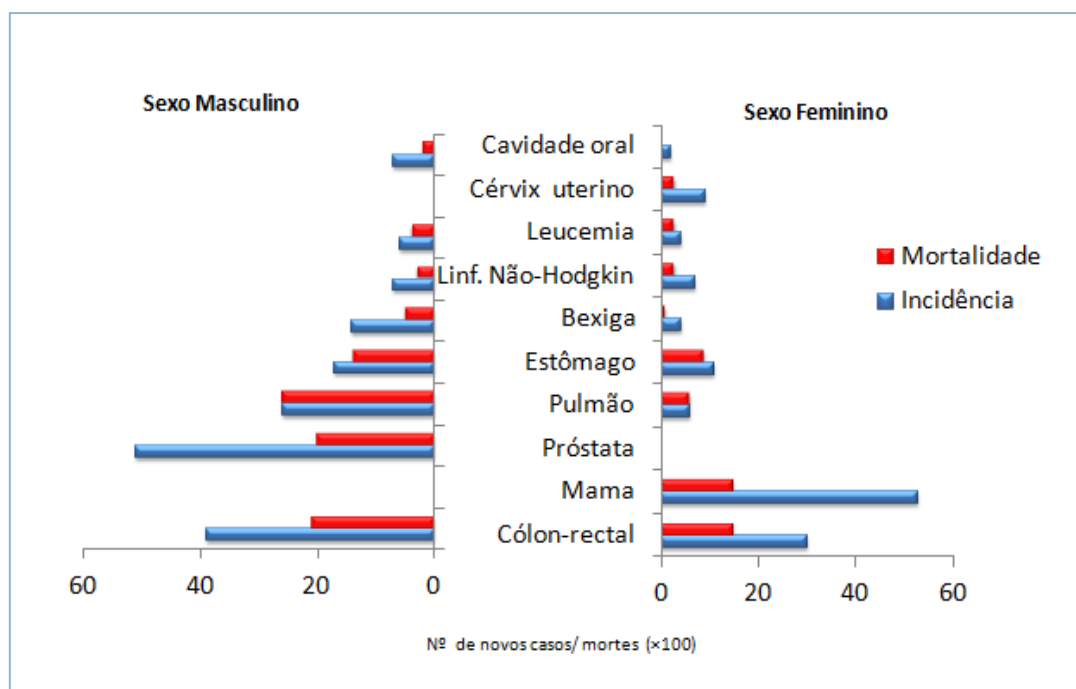


Figura 2: Os dez tipos de cancro mais comuns em Portugal em 2008: estimativas do número de novos casos e do número de mortes, por sexo (adaptado de GLOBOCAN, 2008).

As estimativas apontam para que em 2030, e no que respeita à população portuguesa, ocorra um aumento de cerca de 30% no número de novos casos diagnosticados de cancro para o sexo masculino (acréscimo de 7841 novos casos) e um aumento de cerca de 24% no que respeita ao sexo feminino (acréscimo de 4658 novos casos), em relação aos dados estatísticos de 2008 (Figura 3) (GLOBOCAN 2008).

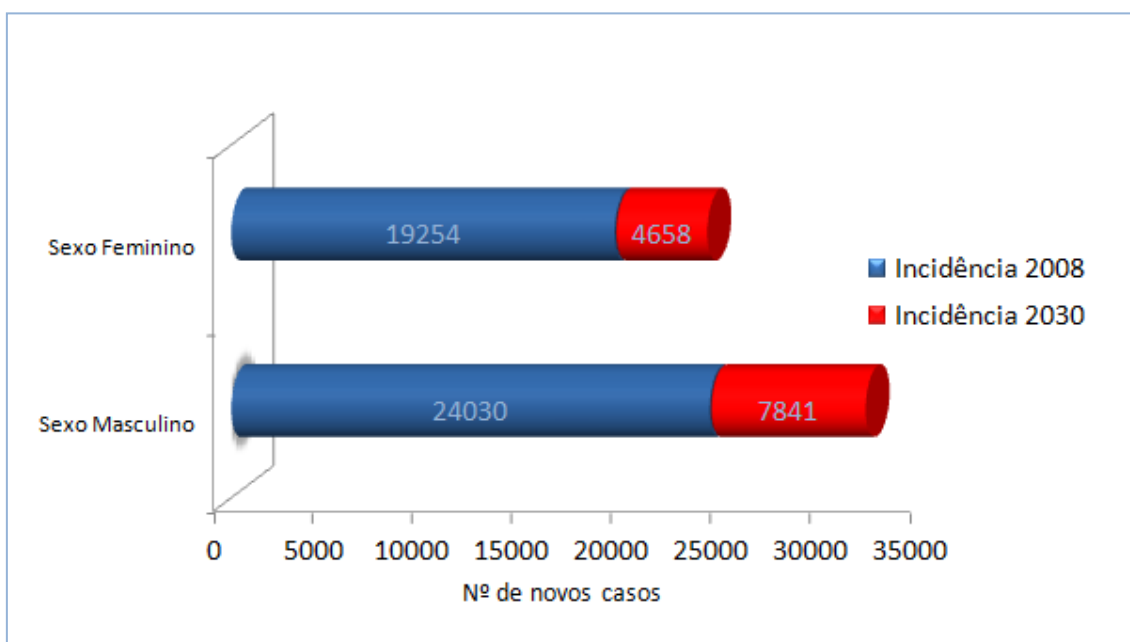


Figura 3: Projeções para Portugal em termos de incidência de neoplasias para 2030, relativamente a dados estatísticos revelados em 2008 (adaptado de GLOBOCAN, 2008).

Esta incidência poderá ser reduzida, através da implementação de estratégias de prevenção e deteção precoce. Assim, com uma deteção precoce na maior parte dos cancros, há uma crescente hipótese de o tratamento ser bem-sucedido, mas para isso é necessário que as pessoas tenham cada vez mais conhecimento acerca dos sinais e sintomas do cancro (WHO, 2002).

Após confirmação do diagnóstico, é necessário verificar em que estado se encontra a doença, para se poder prosseguir para o tratamento. O tratamento tem como objetivos principais, a cura, o prolongamento da vida e a melhoria da qualidade de vida (WHO, 2012). Os principais métodos que envolvem o tratamento são a cirurgia, a radioterapia,

a quimioterapia, a terapia hormonal, a imunoterapia e o suporte psicológico, verificando-se em muitas situações a combinação de vários tratamentos (WHO, 2002).

A cirurgia e a radioterapia são dos métodos mais importantes no tratamento de tumores localizados, podendo obter-se a cura no estado inicial do cancro, quando existe uma deteção precoce. Nos pacientes com um tumor extenso, porém restrito a um local, a cirurgia e radioterapia são métodos muitas vezes essenciais para melhorar a qualidade de vida e/ou prolongar a vida (WHO, 2002).

Por vezes, o tratamento é iniciado com quimioterapia ou radioterapia (tendo como objetivo a redução da dimensão do tumor), o que permite que a intervenção cirúrgica seja mais fácil e/ou se obtenha melhores resultados.

A radioterapia consiste na aplicação de radiação na zona onde está localizado o tumor. Assim, e ao contrário do que acontece com a quimioterapia, em que atinge o organismo todo, a radioterapia restringe-se à zona onde é aplicada. A radiação aplicada vai atacar as células cancerosas, impedindo que elas se dividam e provocando a sua morte (WHO, 2002).

O processo quimioterápico implica o recurso a substâncias químicas administradas por diferentes vias, incluindo via oral ou intravenosa, que vão afetar o funcionamento celular.

A quimioterapia pode ser classificada de acordo com as várias finalidades que apresenta, em curativa, adjuvante, neoadjuvante e paliativa. A quimioterapia curativa tem como objetivo o controlo completo do tumor, podendo ser utilizada tanto em tumores localizados como em tumores disseminados, como é caso de linfomas não Hodgkin de alto grau e de leucemias. A quimioterapia paliativa, não tem como objetivo a cura, mas sim melhorar a qualidade de vida do doente (WHO, 2002). A quimioterapia neoadjuvante é utilizada no período pré-operatório em doentes com tumores de grande extensão, com o objetivo de reduzir o tamanho do tumor e possibilitar uma cirurgia mais efetiva e de menores proporções. Habitualmente é uma quimioterapia combinada e de altas doses. Pode-se, ainda, recorrer à quimioterapia após a cirurgia, situação em que é designada de quimioterapia adjuvante, com o objetivo de prevenir uma recidiva da doença ou destruir/evitar metástases (WHO, 2002).

Atualmente, na clínica usam-se antineoplásicos com origem sintética e/ou natural, no tratamento de leucemias, linfomas e tumores sólidos (Chabner e Brunton, 2005; DeVita *et al.*, 2008).

As plantas constituem uma boa fonte de substâncias ativas com possibilidade de serem usadas na terapêutica, nomeadamente na terapêutica antineoplásica, devido à enorme diversidade estrutural de metabolitos produzidos, muitos dos quais apresentam efeitos farmacológicos interessantes (Varma *et al.*, 2011; Brandão *et al.*, 2010).

De acordo com Newman e Cragg (2007), cerca de metade dos medicamentos aprovados para o tratamento do cancro até 2006, possuíam princípios ativos, que ou eram isolados de matrizes naturais ou eram moléculas sintetizadas a partir de grupos farmacofóricos de produtos naturais.

As quatro principais classes de compostos provenientes de plantas empregues na quimioterapia antineoplásica são: os alcaloides de vinca (vinblastina, vincristina, vinorelbina) (Figura 4-a), as lignanas epipodofilotoxinas (etoposido, teniposido) (Figura 4-b), os diterpenos de taxano (Figura 4-c) (paclitaxel e docetaxel) e os alcaloides derivados da camptotecina (topotecano, irinotecano) (Figura 4-d) (Chabner e Brunton, 2005; DeVita *et al.*, 2008).

De entre estes merece particular destaque o paclitaxel (Taxol[®]) (Figura 4-c) que foi o primeiro representante da classe dos taxanos a obter consentimento pela Administração Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA, do inglês *Food and Drug Administration*) em 1992. Ao contrário de outros metabolitos vegetais, tais como os alcaloides da vinca e os derivados da colchicina que induzem a despolimerização dos microtúbulos, o paclitaxel apresenta um mecanismo citotóxico único, ligando-se de forma específica e reversível à subunidade β da tubulina e promovendo a sua polimerização, o que, por sua vez, estabiliza os microtúbulos. A estabilização resulta no bloqueio do ciclo celular, isto é, na fase G2/M, inibindo a mitose (Nobili *et al.*, 2009; Gligorov e Lotz, 2004; Ma e Wang, 2009) causando a morte celular (Brandão *et al.*, 2010, Chabner e Brunton, 2005).

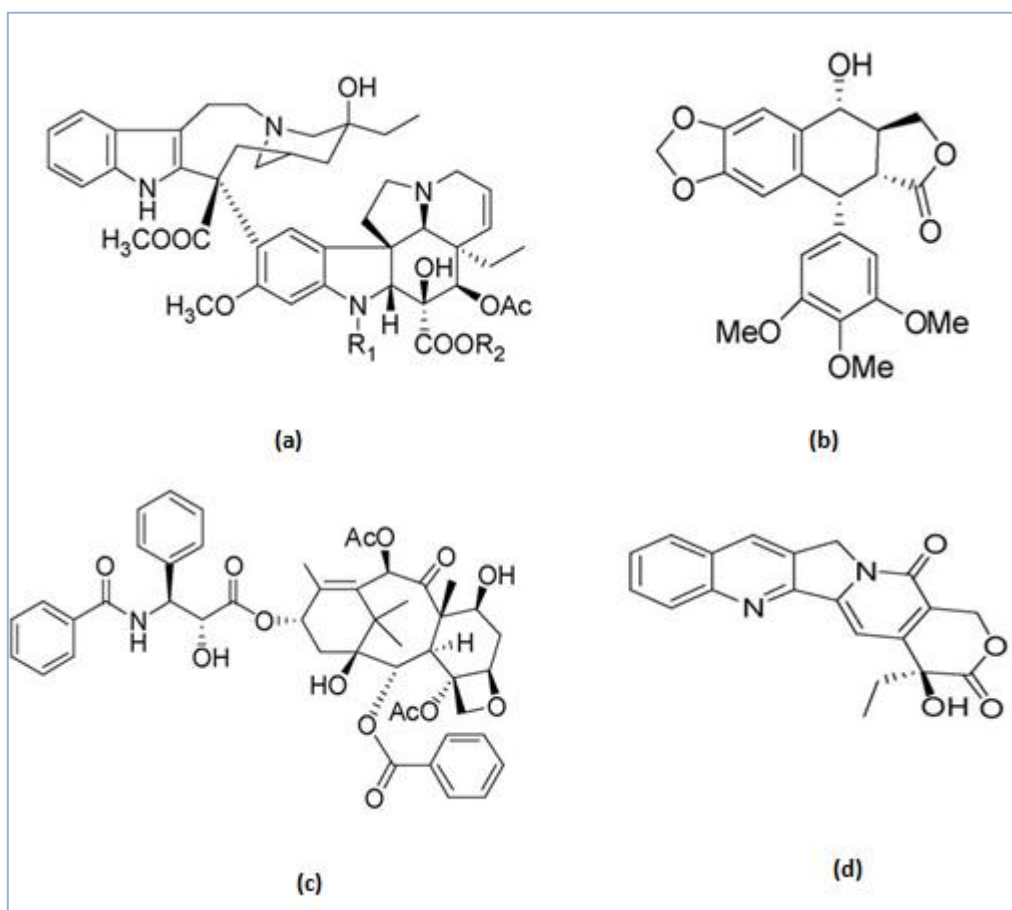


Figura 4: Estrutura base dos alcaloides de vinca (a), das lignanas epipodofilotoxinas (b), do composto paclitaxel (c) e dos alcaloides derivados da camptotecina (d) (retirado de Pan *et al.*, 2009).

Atualmente, o paclitaxel e o docetaxel são considerados antineoplásicos de eleição no tratamento de vários tumores como o cancro da mama, do ovário, CPNPC (cancro do pulmão de não-pequenas células), cabeça e pescoço, gastro-esofágico, bexiga e do testículo (Nobili *et al.*, 2009; Gligorov e Lotz, 2004).

Para além da ação antineoplásica, resultante da estabilização dos microtúbulos, os taxanos também exibem outras ações. Estes compostos são detentores de características imunofarmacológicas (indução de genes e proteínas pró-inflamatórias) que podem levar a novas possíveis aplicações para além da oncologia (Fitzpatrick e Wheeler, 2003), prevendo-se a sua aplicação na terapêutica de algumas doenças autoimunes, designadamente na artrite reumatóide.

Mais recentemente surgiram novas formulações contendo novos análogos e pró-fármacos de taxanos, as quais revelaram possuir vantagens no combate a alguns

problemas associados à tolerância e/ou resistência por parte de alguns cânceros (ten Tije *et al.*, 2003; Hennenfent e Govindan, 2006). Desta forma, compostos como o Abraxane[®] (formulação de paclitaxel em nanopartículas ligadas à albumina), ou ácido docosahexaenóico (DHA) –paclitaxel, têm mostrado ter uma atividade aumentada em relação ao paclitaxel em cânceros que são resistentes aos taxanos ou cânceros que não exibem qualquer resposta na presença do paclitaxel. Apresentam também como vantagem o fato de não provocarem reações de hipersensibilidade ao contrário do paclitaxel e do docetaxel (Rowinsky e Calvo, 2006; Hennenfent e Govindan, 2006).

Nesta dissertação serão abordados todos os aspectos relacionados com a farmacologia do paclitaxel, mecanismo de ação, relação estrutura-atividade, evolução terapêutica desde a sua introdução até aos dias de hoje. Serão igualmente debatidas, de uma forma simples e objetiva, as vantagens das novas formulações de taxanos na terapêutica antineoplásica.

II. Paclitaxel

II.1 Perspetiva histórica

A pesquisa de compostos extraídos de plantas com propriedades anti-neoplásicas iniciou-se na década de 50, com a descoberta e o desenvolvimento dos alcaloides de vinca (vinblastina e vincristina) e com o isolamento das podofilotoxinas citotóxicas. O conhecimento destes agentes, impulsionou em 1960, o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América (NCI, do inglês, *National Cancer Institute*), a iniciar um extensivo programa de *screening*, de modo a explorar novas plantas como fonte de agentes antineoplásicos. A realização deste programa tornou possível a descoberta de novos fitoterápicos anti tumorais, incluindo os taxanos e as camptotecinas (Cragg, 1998).

O primórdio deste impulso foi dado por Jonathan L. Hartwell, químico orgânico do NCI, pela realização de um programa de *screening* de anti cancerígenos a partir de plantas. Assim, este químico estabeleceu um protocolo entre o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA, do inglês, *United States Department of Agriculture*) e o NCI em 1960, cujo objetivo era a procura e isolamento de metabolitos vegetais que exibissem ação citotóxica e anti-leucémica (Wall e Wani, 1996). Através deste protocolo foi realizada uma colheita de amostras de plantas pelo

botânico Arthur S. Barclay do USDA em 1962. Desta recolha constavam, cascas, galhos, frutas e folhas da planta *Taxus brevifolia* Nutt da família Taxaceae (Wall e Wani, 1996).

Em 1964, as amostras do *Taxus brevifolia* (Teixo do Pacífico) foram enviadas para um centro de pesquisa de fármacos formado por cientistas de três universidades dos Estados Unidos da América – o Instituto Triângulo de Pesquisa (RTI, do inglês, *Research Triangle Institute*), onde uma das amostras demonstrou ter atividade citotóxica num ensaio celular (Wall e Wani, 1996; Cragg, 1998).

No final de 1966, Monroe Wall que trabalhava no RTI, procedeu ao isolamento da substância ativa do *Taxus brevifolia* e designou-a como “taxol”, mesmo antes de saber a sua estrutura química. O nome “taxol” foi atribuído, pela existência de grupos hidroxilo e porque naquela época era habitual atribuir o nome do género da planta (Wall e Wani, 1996; Walsh, 1998; Ginsberg, s/d).

A sua estrutura química (Figura 4-c) só foi esclarecida anos mais tarde por volta de 1971, devido às dificuldades que surgiram na altura que impediram o seu desenvolvimento como antineoplásico a escala industrial. Um dos problemas encontrados relacionava-se com a sua reduzida solubilidade em água e também com o fato de o taxol ser isolado num rendimento muito baixo a partir de uma árvore (*Taxus brevifolia*) pouco abundante e de crescimento lento (Jennewein e Croteau, 2001; Singla *et al.*, 2001).

Entre 1955 e 1975, a triagem de novos anticancerígenos era realizada apenas através de modelos experimentais de leucemias murínicas (L1210 e P3881), pelo que o taxol foi testado nesses modelos, tendo apresentado uma atividade moderada *in vivo*. Por esta altura, o NCI não demonstrou grande interesse em avançar com estudos pré-clínicos do taxol (Wall e Wani, 1996).

Após 1975, a triagem dos novos anticancerígenos passou a ser realizada em dois estágios. No primeiro estágio, eram selecionados através de modelo de leucemia murínica (P388) e no segundo, passavam por modelos utilizando animais imunodeficientes, com implante de células tumorais humanas. O taxol voltou a ser alvo de interesse por parte do NCI, quando demonstrou ter uma forte atividade contra o melanoma B16 (modelo de tumor metastático introduzido em 1975 pelo NCI) e nos

novos modelos animais com xenoinxertos de tumor humano, introduzidos dois anos mais tarde pelo NCI. O taxol demonstrou também a capacidade de causar a regressão de um xenoinxerto do tumor mamário (Kingston, 2005; Wall e Wani., 1996; Cragg, 1998).

Em 1979 Susan Hortwiz e os seus colaboradores descobriram o mecanismo de ação do taxol. Este fármaco tem a capacidade de inibir a mitose em células em divisão, por ligação aos microtúbulos, promovendo a polimerização da proteína tubulina (Kraitzer *et al.*, 2012; Schiff *et al.*, 1979). O taxol promove a polimerização da tubulina, a fim de tornar os microtúbulos mais estáveis e disfuncionais, conduzindo assim a morte da célula (Singla *et al.*, 2001). Deste modo ficou esclarecido a sua atividade anti proliferativa.

No ano de 1992, foi aprovado pela FDA para o tratamento do cancro do ovário e da mama, apresentando bons resultados clínicos (McGuire *et al.*, 1989; O'Shaughnessy e Cowan, 1994). Houve assim uma crescente procura deste fármaco, sendo considerado atualmente um dos fármacos anticancerígenos mais importantes na clínica para o tratamento do cancro do ovário, da mama e do pulmão, bem como no tratamento da sarcoma Kaposi's (relacionado com a SIDA) em associação com a cisplatina (Altmann e Gertsh., 2007).

II.2 Atividade antineoplásica do paclitaxel e aplicações clínicas

O paclitaxel é um dos agentes antineoplásicos mais eficiente, mais ativo e com mais baixa toxicidade usado no tratamento do cancro (Zhou, *et al.*, 2010).

A introdução do paclitaxel na prática clínica teve início em 1990, para o tratamento do cancro do ovário e mais tarde no cancro da mama. Contudo, hoje em dia além de ser utilizado nestes dois tipos de cancros, acrescenta-se o cancro da bexiga, da próstata, esófago, cabeça e pescoço, cervical, endométrio, bem como do pulmão e o sarcoma de Kaposi relacionado com a SIDA (Ye e Bhatia, 2012). Além destas aplicações, o taxol também é usada na prevenção da reestenose coronária (estreitamento dos vasos sanguíneos) porque inibe a proliferação das células do músculo liso e bloqueia a sinalização intracelular (Kraitzer *et al.*, 2012).

Outras utilizações relacionadas com o paclitaxel, são no transplante de órgãos, nas doenças auto-imunes e nas doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (Ye e Bhatia, 2012).

Novos sistemas de libertação sustentada para o taxol, incluindo lipossomas e micelas estão a ser alvo de pesquisa para uma entrega mais localizada do fármaco, o que salienta a importância na clínica deste composto (Ye e Bhatia, 2012).

II.3 Processo de obtenção do paclitaxel

O desenvolvimento do taxol enfrentou alguns desafios. Inicialmente surgiram algumas preocupações de natureza ambiental, dado que a casca de *T. brevifolia* contém apenas pequenas quantidades de taxol (0,01-0,03%) pelo que se tornava necessário o abate de um elevado número de plantas. Por outro lado, a solubilidade em água do taxol é extremamente baixa, o que causava problemas na formulação (Cragg *et al.*, 1993). A elevada procura, associada a estes problemas, levou ao desenvolvimento de processos de obtenção do taxol a partir de fontes mais sustentáveis.

De modo a garantir um fornecimento mais contínuo, desenvolveu-se um processo de obtenção semi-sintético do taxol, recorrendo a um precursor - o 10-desacetilbacatina III (10-DABIII). O referido precursor apresenta o esqueleto básico e as funcionalidades do paclitaxel (Figura 5) e é obtido a partir do isolamento das agulhas da *T. baccata* (teixo europeu) e *T. yunnanensis* (teixo Himalaia) (Denis *et al.*, 1988). O paclitaxel é obtido em poucas etapas pela acetilação da posição 10 da 10-DABIII e pela introdução da cadeia lateral na posição C-13.

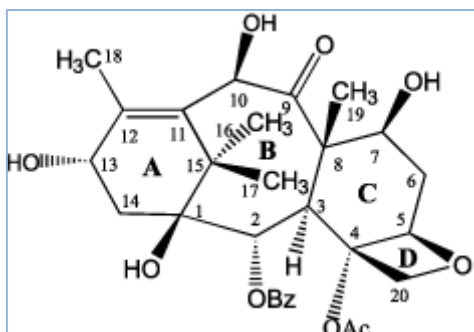


Figura 5: Estrutura química da 10-desacetilbacatina-III (retirado de Souza, 2004).

Este processo de produção semi-sintético levou ao desenvolvimento de uma grande variedade de *análogos do taxol*, *semi-sintéticos* como por exemplo o *docetaxel* (Figura 6) (Walsh, 1998). Mas este processo apresenta alguns problemas associados à planta tais como: o crescimento lento das espécies *Taxus*, os custos de purificação do composto e variações no teor de taxóide (Jennewein e Croteau, 2001).

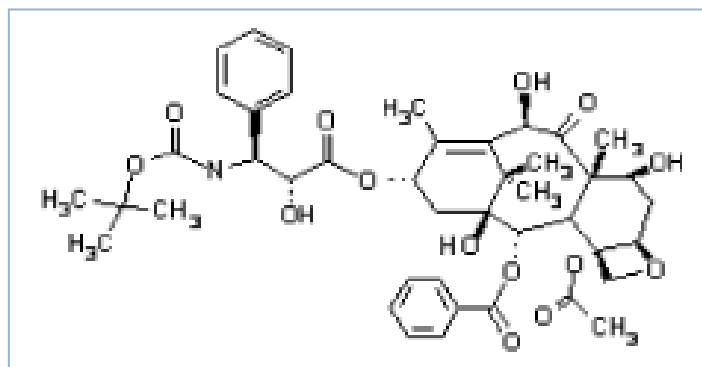


Figura 6: Estrutura química do docetaxel (retirado de Fitzpatrick e Wheeler, 2003).

A quantidade requerida de paclitaxel excede em muito o que é possível de obter a partir de fontes naturais e de processos de semi-síntese. Deste modo têm sido desenvolvidos intensos esforços no sentido de encontrar outras opções de produção (Huang *et al.*, 2001). Surgiram assim processos de produção alternativos baseados em culturas celulares, na síntese química e na biotecnologia semi-sintética. Outro processo de produção de taxol também relatado é através de fungos endófitos presentes na planta, produzindo grandes quantidades deste composto (Strobel, 2003).

II.4 Mecanismo de ação

O paclitaxel apresenta um mecanismo de ação que se distingue da maioria dos agentes citotóxicos. Assim, o paclitaxel não interage diretamente com os componentes nucleares (DNA e RNA), nem interfere com a sua síntese, atuando ao nível dos microtúbulos, na fase mitótica do ciclo celular (Surapaneni *et al.*, 2012).

Os agentes antineoplásicos que interagem com os microtúbulos, podem ser agrupados em dois sub-grupos: os compostos que impedem a polimerização da tubulina e/ou destabilizam os microtúbulos pré-existent e os estabilizadores dos microtúbulos (MSA's, agentes estabilizadores de microtúbulos, do inglês, *Microtubule-Stabilizing*

Agents) (Altmann e Gertsch, 2007). Ambos conduzem ao bloqueio do ciclo celular na mitose e à morte celular, por apoptose, daí serem designados como agentes anti mitóticos ou inibidores da divisão celular (Altmann e Gertsch, 2007).

Os agentes estabilizadores dos microtúbulos marcaram claramente um avanço significativo no tratamento das neoplasias, quando foram introduzidos em 1993 (Altmann e Gertsch, 2007, Morris e Fornier, 2008).

Entre os principais representantes da classe dos MSA's, encontram-se os taxanos, paclitaxel e os seus derivados. O paclitaxel tornou-se conhecido por ter um mecanismo de ação citotóxico único, pelo fato de se ligar à tubulina interferindo desta forma com a divisão celular. Após a ligação à tubulina polimerizada, o taxol exerce uma ação anti-mitótica, impedindo que ocorra a despolimerização dos microtúbulos (Schiff *et al.*, 1979).

Os microtúbulos constituem um dos principais componentes do citoesqueleto das células eucarióticas onde desempenham várias funções celulares importantes (Magnani *et al.*, 2009). São fundamentais, no desenvolvimento e na manutenção da forma das células, no transporte de vesículas, mitocôndrias e outros componentes no meio intracelular, na sinalização celular e na formação do fuso mitótico durante a divisão celular (Mollinedo e Gajate, 2003; Jordan e Wilson, 2004; Marchetti *et al.*, 2002).

Estruturalmente, a generalidade dos microtúbulos é constituída por treze protofilamentos alinhados longitudinalmente em forma de tubo oco. Cada protofilamento linear é constituído por vários heterodímeros de α e β tubulina (Figura 7) (Marchetti *et al.*, 2002; Morris e Fornier, 2008; Desai e Mitchison, 1997).

Cada microtúbulo apresenta duas extremidades distintas: a extremidade positiva (+) que finaliza com uma subunidade de β tubulina e a extremidade negativa (-) que termina com uma subunidade α de tubulina (Altmann e Gertsch, 2007).

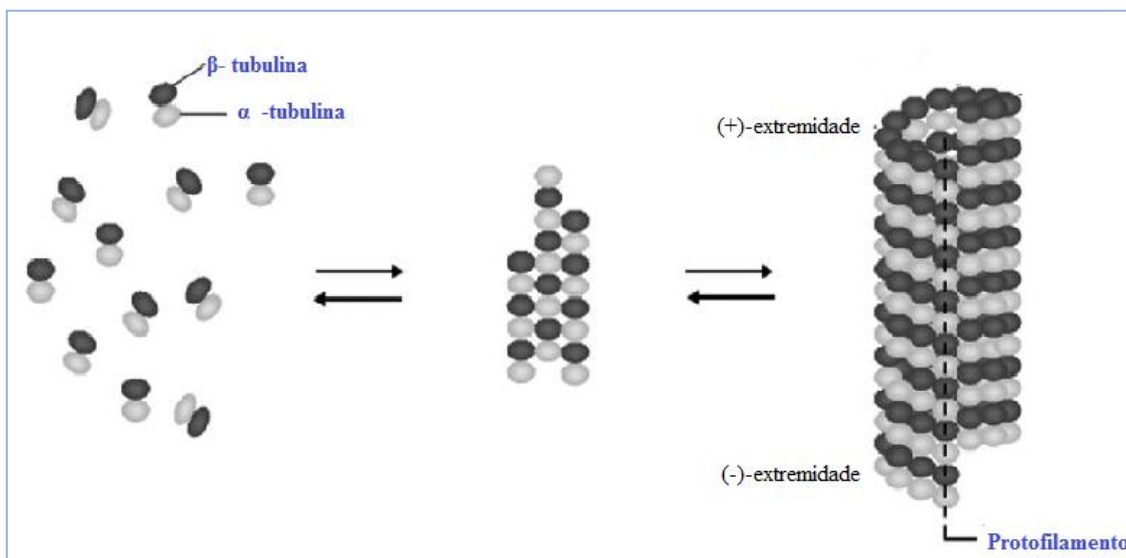


Figura 7: Estrutura dos microtúbulos (adaptado de Altmann e Gertsch, 2007).

Uma característica essencial dos microtúbulos é o fato de possuírem uma elevada ‘instabilidade dinâmica’, ou seja, são estruturas altamente dinâmicas que tem a capacidade de encurtar e alongar de forma alternada, através da adição ou perda de heterodímeros de tubulina α/β nas suas extremidades. (Magnani *et al.*, 2009; Altmann e Gertsch, 2007). A instabilidade dinâmica é mediada pela troca guanossina trifosfato (GTP)/ guanossina difosfato (GDP), portanto a subunidade α da tubulina liga-se de forma irreversível ao GTP, alcançando a configuração adequada para a polimerização do microtúbulo, enquanto a subunidade β da tubulina estabelece uma ligação reversível, com o GTP ou GDP, conduzindo respectivamente a polimerização ou despolimerização do microtúbulo (Pasquier e Kavallaris, 2008).

As duas extremidades de cada microtúbulo têm características dinâmicas muito diferentes. A extremidade (+) apresenta maior dinamismo que a extremidade (-). Devido a estas diferenças, os microtúbulos do fuso mitótico estão constantemente a polimerizar nas extremidades (+) e a despolimerizar nas extremidades (-).

A regulação dinâmica dos microtúbulos efetuada pelas células envolve várias proteínas celulares endógenas e é um requisito fundamental para que ocorram as várias atividades celulares. A dinâmica dos microtúbulos encontra-se mais elevada na fase mitótica e é nesta fase que a tensão e a formação do cinétocoro são substanciais para uma correta fixação, separação e segregação dos cromátídeos (Pasquier e Kavallaris, 2008).

A capacidade dinâmica dos microtúbulos depende entre outros, dos diferentes isótipos de α e β tubulina e da interação com proteínas que interagem com os microtúbulos, as MAP's (proteínas associadas a microtúbulos, do inglês, *Microtubule Associated Proteins*). Existem MAP's com capacidade de estabilizar os microtúbulos (caso da MAP4 e da Tau), e MAP's com ação desestabilizadora dos microtúbulos (caso das proteínas da família da estatmina) (Pasquier e Kavallaris, 2008).

Os taxanos e outros MSA's, possuem a capacidade de se ligarem à subunidade β da tubulina no lúmen dos microtúbulos polimerizados, provocando a supressão dinâmica microtubular e a estabilização dos mesmos. Dessa forma, a mitose acaba por ser interrompida, por acumulação das células na fase G2/M do ciclo celular, o que, por sua vez, impede a divisão celular e a consequente proliferação das células neoplásicas (Gligorov e Lotz, 2004; Magnani *et al.*, 2009).

O efeito dos MSA's sobre os microtúbulos, não só afeta a progressão do ciclo celular, como também provoca alterações nas vias de sinalização, como a apoptose. Assim, num estudo realizado por Subrata Haldar *et al.*, verificou-se que o paclitaxel além de promover a estabilização de microtúbulos, também conduzia à morte programada das células cancerígenas por indução da fosforilação da proteína anti-apoptica Bcl-2. Desta forma, era ativada uma cascata de eventos que culminava na apoptose da célula (Altmann e Gertsh, 2007; Haldar *et al.*, 1996).

A eficácia do paclitaxel como agente terapêutico deve-se essencialmente às propriedades atribuídas a nível citotóxico e a nível da angiogênese. O paclitaxel vai inibir a angiogênese, a nível da migração celular, proliferação e secreção da collagenase (Surapaneni *et al.*, 2012).

II.5 Relação estrutura-atividade

Os estudos sobre a relação estrutura-atividade do paclitaxel, revelaram-se importantes não só na compreensão da base molecular da sua ação, mas também no planeamento de novos análogos de paclitaxel com propriedades melhoradas (Fang e Liang, 2005).

O paclitaxel é um fármaco natural de estrutura complexa (Figura 8), constituído por um núcleo rígido de quatro anéis (bacatina) e por quatro cadeias laterais flexíveis, posicionadas nos carbonos 2, 4, 10 e 13 (Kingston *et al.*, 2005). Horwitz e seus colaboradores demonstraram, que a cadeia lateral presente no taxol sob a forma de éster

era fundamental para a sua bioatividade. Segundo o grupo de investigação de Horwitz, a cadeia lateral no C-13 e o benzoato no C-2 funcionam como âncoras na ligação entre o anel taxóide e a tubulina. Também, o anel oxetano (anel – D na figura 8) se encontra envolvido na interação do taxol com a proteína tubulina (Expósito *et al.*, 2009).

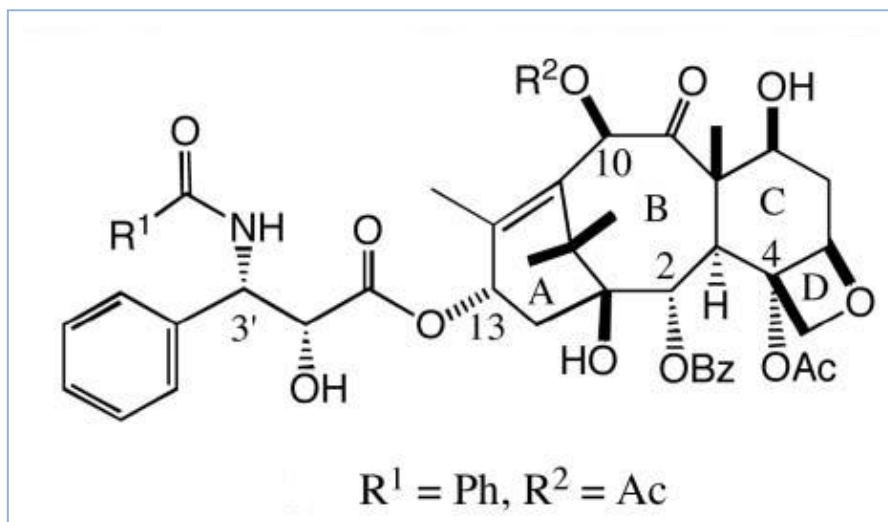


Figura 8: Estrutura química do paclitaxel com a respectiva identificação dos anéis e com numeração parcial (adaptado de Kingston, 2005).

Dada a complexidade química do paclitaxel, o resumo dos principais estudos envolvendo a relação entre a estrutura e a atividade desta molécula irá ser apresentado de forma segmentada, à semelhança do que tem vindo a ser feito na literatura especializada (Kingston, 2005; Corrêa, 1995):

i. Hemisfério norte (posições 7, 9, 10 e dupla em C11-C12)

As modificações introduzidas nas posições deste hemisfério, não se traduziram em grandes alterações na atividade biológica da molécula. A derivatização do grupo hidroxilo na posição 7 ou a alteração da sua estereoquímica praticamente não condiciona a ação anticancerígena do fármaco. Quanto ao grupo cetónico que se encontra na posição 9, a sua redução pode conduzir a um ligeiro aumento de atividade (Srivastava *et al.*, 2005).

A remoção do acetato presente na posição 10 do taxol conduz a uma perda de atividade. Contudo alguns análogos que apresentam o grupo hidroxilo na posição 10 têm uma atividade superior à do taxol (Srivastava *et al.*, 2005).

A dupla ligação em C11-C12 é muito pouco reactiva, o que dificultou a realização de modificações a este nível. Ainda assim, foram sintetizados alguns epóxidos que se revelaram mais ativos do que o taxol nos ensaios de ligação à tubulina, mas menos citotóxicos face a algumas linhagens de células tumorais (caso das células de melanoma B16) (Kingston, 2001).

ii. Anel oxetano

A formação do anel oxetano é indispensável na ação antineoplásica do taxol. Duas hipóteses foram propostas para explicar a sua importância na interação com os microtúbulos: a rigidez imposta na estrutura do anel C e a execução de uma conformação favorável da cadeia lateral em C-13 e dos grupos acilos de C-2 e C-4, e a outra hipótese é estar diretamente envolvido na interação com os microtúbulos através do átomo de oxigénio presente no anel, estabelecendo pontes de hidrogénio ou por interação dipolo-dipolo (Mercklé *et al.*, 2001).

De modo a provar a importância do anel oxetano na atividade do taxol, análogos com o anel aberto, bem como análogos com modificações no átomo de oxigénio do anel foram preparados e avaliados na sua capacidade de ligação à tubulina e na ação citotóxica. Estudos reportados por Kingston e Chen revelaram que análogos com abertura do anel oxetano levavam à perda da citotoxicidade em relação ao paclitaxel (Figura 9-(a) e (b)) (Zhang e Demain, 2005).

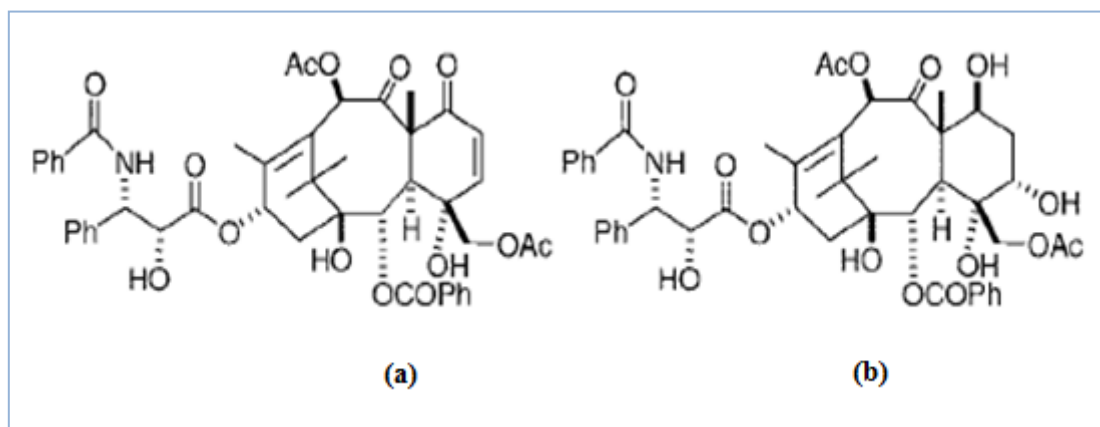


Figura 9: Análogos do paclitaxel obtidos por modificação no anel oxetano (retirado de Zhang e Demain, 2005).

Outras alterações na estrutura do anel oxetano, tais como a substituição do átomo do oxigênio pelo enxofre (Figura 10) implicam igualmente a perda na atividade citotóxica do taxol (Kingston, 2008).

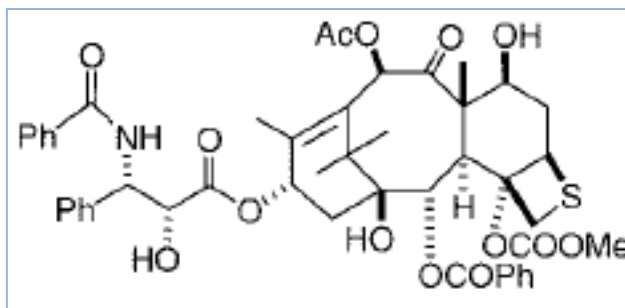


Figura 10: Análogo tietano com um átomo de enxofre no oxetano (retirado de Kingston, 2008).

iii. Hemisfério sul (posições 1, 2 e 4)

De uma maneira geral, no hemisfério sul não são permitidas modificações, uma vez que esta área da molécula desempenha um papel importante na ligação aos microtúbulos (Srivastava *et al.*, 2005).

A presença dos grupos pertencentes ao hemisfério sul na estrutura do taxol, nomeadamente o grupo hidroxilo no C-1, o grupo benzoílo no C-2 bem como, o grupo acetato no C-4 revelaram ser cruciais na manutenção da atividade citotóxica (Srivastava *et al.*, 2005). Deste modo, tanto a remoção do grupo hidroxilo da posição 1 como do grupo acetato da posição 4, traduzem-se numa crescente perda de atividade.

A integridade do grupo benzoílo no C-2 é determinante na atividade do taxol, o que tem vindo a ser confirmado tanto pelos ensaios de polimerização da tubulina, como pelos ensaios de citotoxicidade (Expósito *et al.*, 2009). Assim, substituintes do grupo da posição 2 conduzem a alterações profundas na bioatividade do taxol. Deste modo, análogos do taxol que possuam substituintes relativamente volumosos, como o azido (N₃), cianeto (CN) ou metoxilo (OCH₃) na posição *para*, levam a uma perda significativa de atividade. Contudo, se se apresentarem na posição *meta*, há um aumento de atividade, nomeadamente na polimerização dos microtúbulos, em comparação com o taxol (He *et al.*, 2000). Um exemplo de um análogo na posição *meta*, que se provou ter

atividade seis vezes maior que o taxol, foi o 2-*m*-azido taxol (Figura 11) (He *et al.*, 2000).

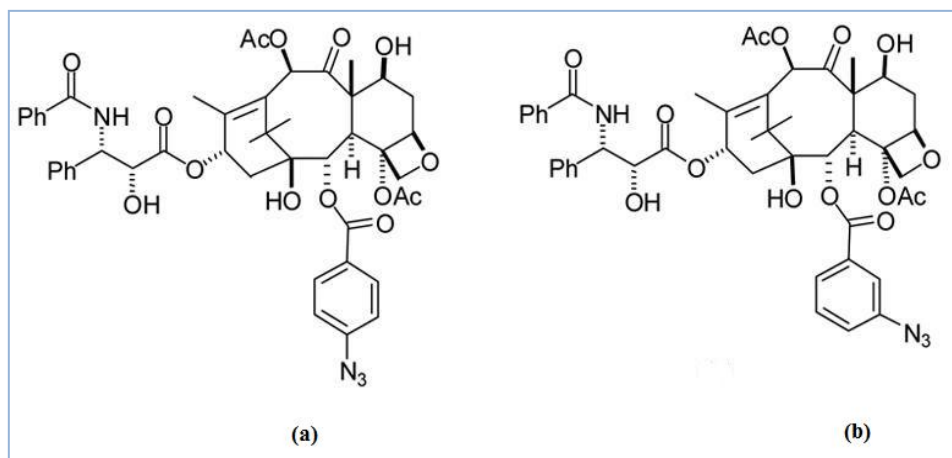


Figura 11: Estrutura de um análogo do paclitaxel com um substituinte *p*-azido (a) e com um substituinte *m*-azido (b) no anel benzoílo do C-2 (adaptado de Kingston, 2007).

iv. Cadeia lateral em C13

A presença da cadeia lateral em C13 na estrutura, é crucial para que ocorra atividade antineoplásica.

Na cadeia lateral, o grupo hidroxilo posicionado no C-2' é fundamental para que o fármaco exerça a sua ação. Quando o hidroxilo está protegido por outro grupo, a sua atividade torna-se diminuta. No entanto, se o grupo protetor for instável, a molécula apresentará uma atividade *in vivo* semelhante ao taxol desprotegido. Esta atividade *in vivo* é justificada pelo processo de hidrólise que ocorre no grupo instável que se encontrava a proteger o taxol. Já, *in vitro* não revela qualquer tipo de atividade. Alterações deste tipo na molécula revelam-se importantes na síntese de pró-fármacos, cuja mais valia em relação ao paclitaxel, apresentando na maioria das vezes maior solubilidade em água (Srivastava *et al.*, 2005).

Outro grupo que se revelou essencial na atividade do taxol, foi o grupo arilo presente no C-3' da cadeia lateral, que melhora a atividade do taxol quando está presente. Alguns estudos revelaram que a substituição do grupo arilo por um metilo reduzia a atividade cerca de dezanove vezes (Srivastava *et al.*, 2005).

A Figura 12 apresenta uma síntese dos aspectos mais importantes no que respeita à relação estrutura-atividade do paclitaxel.

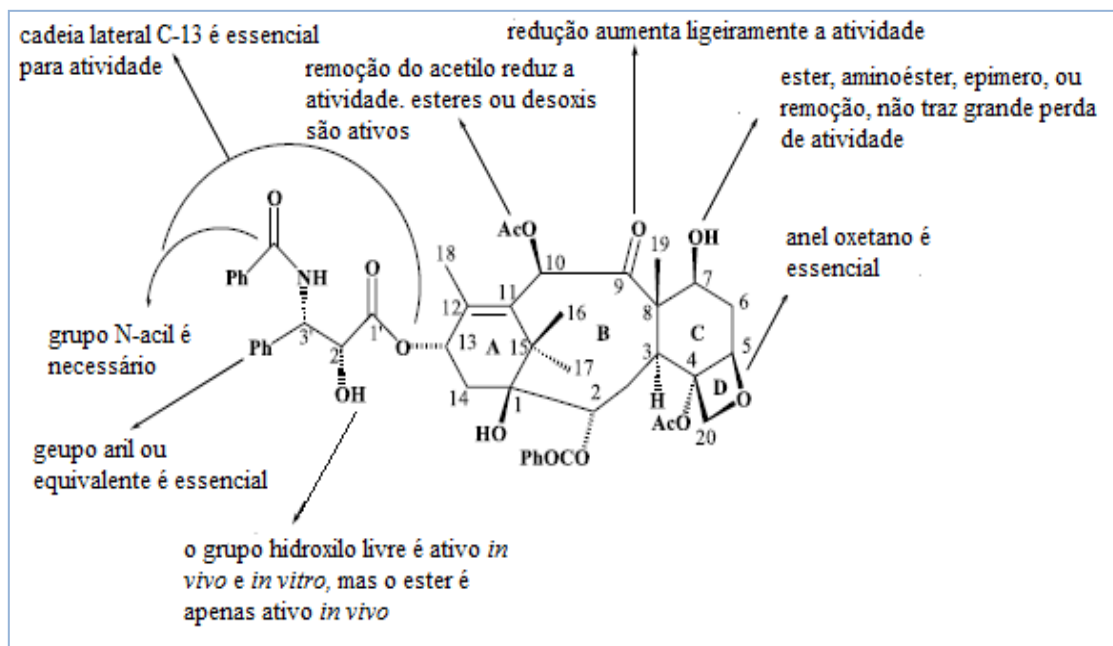


Figura 12: Breve resumo da relação estrutura atividade do paclitaxel (adaptado de Serivastava *et al.*, 2005).

II.6 Restrições do seu uso

O uso de taxanos na clínica tem vindo a ser limitado devido a: (1) resistência tumoral (2) risco de reações de hipersensibilidade e (3) reações de toxicidade (Morris e Fornier, 2008). Como consequência do aumento de número de pacientes tratados com taxanos, o desenvolvimento de resistência torna-se cada vez mais, um problema significativo na clínica (Murray *et al.*, 2012).

Um dos mecanismos pelo qual a célula tumoral desenvolve resistência é através da expressão de proteínas de resistência a múltiplos fármacos, como a glicoproteína-P (P-gp) (Morris e Fornier, 2008). A P-gp (ABCB1), é uma proteína membrana que pertence à família dos transportadores ABC. É codificada pelo gene de resistência-1 múltipla de fármacos (MDR1), e sendo um transportador atua como bomba de efluxo dependente de ATP, expulsando das células tumorais alguns fármacos como os taxanos

ou alcaloides de Vinca e desta forma limitando a sua eficácia (Morris e Fornier, 2008; Murray *et al.*, 2012).

O segundo mecanismo pelo qual as células adquirem resistência aos taxanos inclui mutações na tubulina, que pode surgir através de uma sobreexpressão da isoforma β III da tubulina (Morris e Fornier, 2008). Dependendo da isoforma da tubulina, existem diferenças na ligação ao paclitaxel, o que sugere que o tipo de isoforma é essencial em termos de resistência (Murray *et al.*, 2012). No entanto, o papel funcional desta proteína e a resistência aos taxanos ainda é pouco compreendido (Gan *et al.*, 2010). O estudo realizado por Kamath *et al.*, sugere que a sobreexpressão da β III tubulina induz resistência ao paclitaxel, diminuindo a capacidade deste para suprimir a dinâmica dos microtúbulos (Kamath *et al.*, 2005).

Alterações ao nível da expressão de MAP's também estão relacionadas com a resistência das células tumorais aos taxanos. Estudos revelaram que o aumento da expressão da proteína Tau está associado a uma diminuição da resposta do paclitaxel, no cancro da mama uma vez que limita a capacidade do paclitaxel de alcançar o seu local de ligação na parede do microtúbulo (Pasquier e Kavallaris, 2008).

O risco de ocorrência de reações de hipersensibilidade, deve-se, essencialmente, à baixa solubilidade do paclitaxel em água. A baixa hidrossolubilidade do paclitaxel obriga ao uso de outros solventes, tais como o óleo de ricínio polietoxilado (Cremophor EL). Estes solventes são os principais responsáveis pelas reações de hipersensibilidade. No sentido de reduzir estas reações de hipersensibilidade, são adotadas medidas de profilaxia, como a utilização de pré-medicação (Morris e Fornier, 2008). Reações de toxicidade hematopoiética limitante da dose e neurotoxicidade cumulativa de longo prazo também têm sido reportadas (Morris e Fornier, 2008).

III. Análogos do paclitaxel

O primeiro análogo do paclitaxel, o docetaxel, surgiu como uma estratégia para ultrapassar as dificuldades iniciais de obtenção do paclitaxel.

O docetaxel, análogo semi-sintético do paclitaxel, é produzido a partir das agulhas do teixo europeu, *Taxus baccata*. O docetaxel difere da estrutura química do paclitaxel

(Figura 13) em duas posições, que o tornam ligeiramente mais solúvel em água (Yared e Tkaczuk, 2012). Apesar disso o docetaxel apresenta alguns problemas clínicos, nomeadamente a ainda baixa hidrossolubilidade e alguns graves problemas de toxicidade (tais como mielosupressão e neuropatia sensorial periférica) que limitam a dose possível de ser administrada (Yared e Tkaczuk, 2012). Para além disso, estão descritas reações de hipersensibilidade aguda e o aparecimento de fenómenos de resistência (Yared e Tkaczuk, 2012). Parte dos efeitos secundários que têm vindo a ser reportados encontram-se, à semelhança do que foi descrito para o paclitaxel, associados ao solvente usado na diluição desta molécula, neste caso o polissorbato 80.

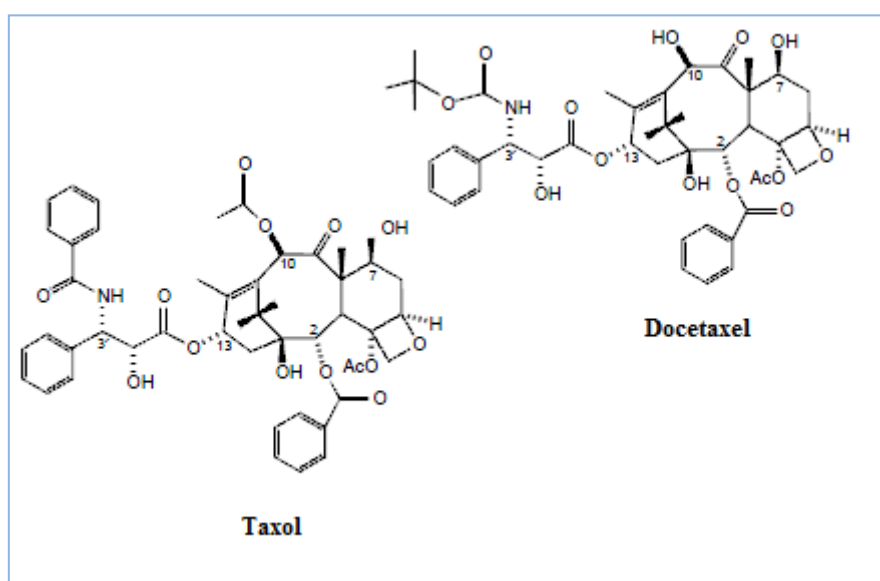


Figura 13: Comparação da estrutura química do taxol e do docetaxel, com as respetivas diferenças do grupo do C-10 e do grupo C-3' (He *et al.*, 2001).

Como meio de ultrapassar estas limitações dos taxanos convencionais, os investigadores têm procurado o desenvolvimento de uma segunda geração de taxanos e de outros quimioterápicos que não pertencendo ao grupo dos taxanos, tenham igualmente como alvo os microtúbulos (Hennenfent e Govindan, 2006; Yared e Tkaczuk, 2012).

Estes análogos dos taxanos desenvolvidos têm o objetivo de aumentar a biodisponibilidade oral, reduzir os efeitos colaterais e aumentar a atividade terapêutica (Hennenfent e Govindan, 2006).

III.1 BMS-184476

O novo análogo do paclitaxel, o BMS-184476, resultou da substituição do grupo hidroxilo presente na posição 7 da molécula do paclitaxel pelo grupo éter 7-metiltiometilo (Figura 14), que confere uma maior solubilidade à molécula e permite uma redução de cerca de 80% na quantidade de Cremophor EL por miligrama de fármaco (Hennenfent e Govindan, 2006).

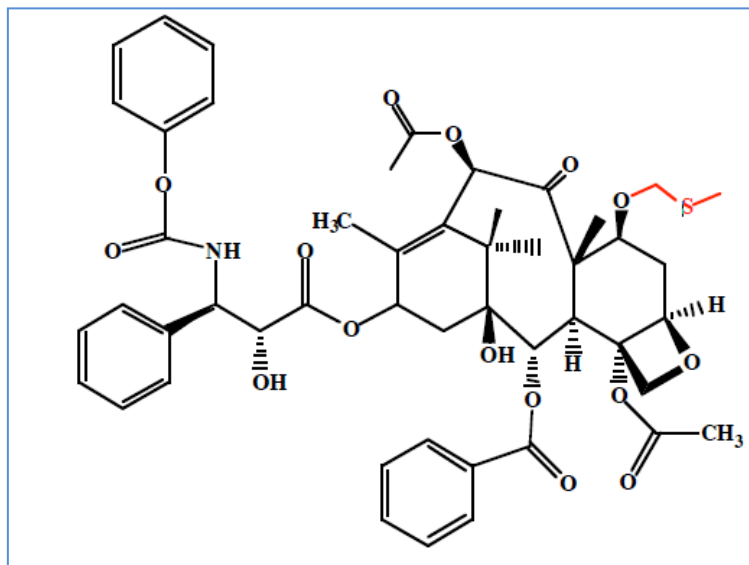


Figura 14: Estrutura química do BMS-184476 (retirado de Boulikas e Tsogas, 2008).

Em estudos pré-clínicos e clínicos, o BMS-184476 exibiu grande atividade, nomeadamente pelo seu elevado poder na polimerização da tubulina em comparação com o paclitaxel convencional. Este análogo demonstrou igualmente alguma atividade em células resistentes ao paclitaxel (Yared e Tkaczuk, 2012). De fato, o BMS-184476 demonstrou atividade em linhagens celulares HCT/MDR do cancro do cólon (onde se verifica uma sobre expressão da Pgp-170 que confere resistência face ao paclitaxel) e em linhagens celulares A2780/TAX (cancro ovário), nas quais a resistência ao paclitaxel é atribuível a mutação na tubulina. (Yared e Tkaczuk, 2012; Hidalgo *et al.*, 2001).

III.2 DJ-927 (Tasetaxel)

O DJ-927 (Figura 15), é um novo inibidor da tubulina, de administração oral que provoca a apoptose e a interrupção da divisão da divisão celular (Ismael *et al.*, 2008).

Esta forma de administração é mais cómoda para o doente, reduz os custos na administração e facilita o tratamento a longo prazo sendo, por isso, preferível à via de administração intravenosa (Shionoya *et al.*, 2003).

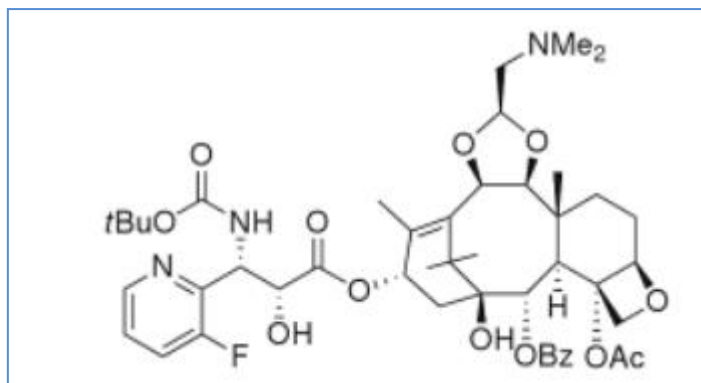


Figura 15: Estrutura química do DJ-927 (retirado de Qi *et al.*, 2012).

Essencialmente foi desenhado, para ultrapassar a resistência das células tumorais aos taxanos e melhorar a eficácia clínica (Hennenfent e Govindan, 2006). Apresenta propriedades vantajosas em relação aos taxanos convencionais, tais como, maior solubilidade, ausência de neurotoxicidade e reações de hipersensibilidade. A sua ação anti tumoral em estudos pré-clínicos foi comparada com a do paclitaxel e a do docetaxel, tendo-se revelado mais ativo e mais citotóxico nas várias linhagens de células tumorais que expressam a P-gp (Yared e Tkaczuk, 2012). Além disso, a sua acumulação dentro das células tumorais demonstrou ser superior em comparação com o paclitaxel e o docetaxel (Yared e Tkaczuk, 2012). Contudo apresenta como efeitos colaterais mielosupressão e neutropenia (Minckwitz *et al.*, 2013).

Recentemente, este composto foi concedido pela FDA, depois do pedido da Companhia Genta, para analisar a segurança e eficácia do tasetaxel em doentes com cancro gástrico avançado, cuja a doença progrediu após a quimioterapia de primeira linha. Composto este, que se encontra nos últimos estudos de fase II, é o principal taxano oral em desenvolvimento clínico (Business Wire, 2010). O tasetaxel já foi avaliado num estudo de fase II no cancro da mama e atualmente encontra-se em avaliação num estudo mais aprofundado de fase II como tratamento de primeira linha em cancro da mama metastático (Minckwitz *et al.*, 2013).

Este princípio ativo tem também vindo a ser avaliado em outros estudos de fase II como tratamento de segunda linha em doentes com melanoma, cancro próstata, cancro do cólon rectal e no CPNPC avançado (Saif *et al.*, 2011; Spigel e Greco, 2008)

III.3 BMS-275183

O BMS-275183 é um análogo do paclitaxel com modificações na cadeia lateral C-13 e C-4 (Figura 16). Em estudos *in vitro*, demonstrou ter uma eficácia semelhante à do paclitaxel na montagem da tubulina (Hennenfent e Govindan, 2006).

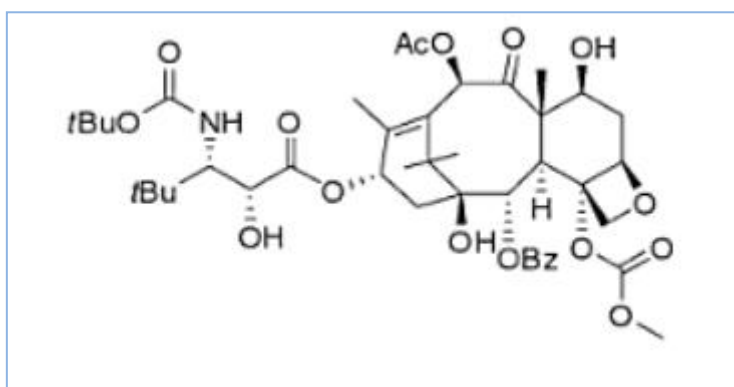


Figura 16: Estrutura química do BMS-275183 (retirado de Qi *et al.*, 2012).

Surpreendentemente, numa linhagem de células tumorais que expressam a P-gp, demonstrou uma pequena perda de ação em comparação com o paclitaxel (Hennenfent e Govindan, 2006).

Este análogo, administrado também por via oral, provou ser tão eficaz como o paclitaxel (administrado por via intravenosa) em cinco modelos tumorais e mostrou boa biodisponibilidade oral em animais (Qi *et al.*, 2012). No entanto, a sua aplicação clínica é limitada devido à toxicidade demonstrada, nomeadamente na indução de neuropatias periféricas (Zabaleta *et al.*, 2012).

III.4 Ortataxel (BAY 59-8862, IDN-5109)

O ortataxel é um análogo do paclitaxel que em estudos pré-clínicos em modelos tumorais, apresentou atividade consideravelmente superior à do paclitaxel ou do docetaxel (Spigel e Greco, 2008) (Figura 17).

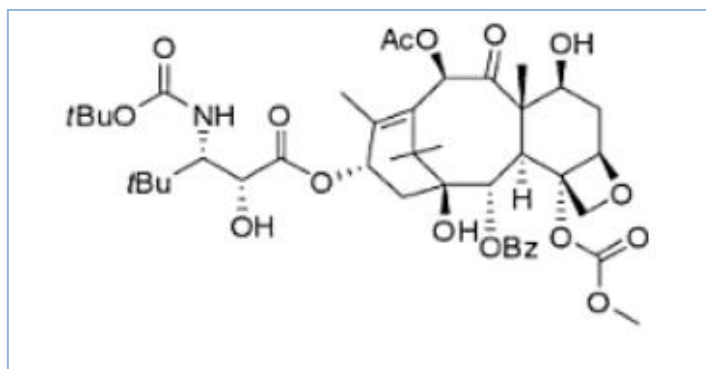


Figura 17: Estrutura química do ortataxel (retirado de Qi *et al.*, 2012).

Em estudos pré-clínicos, este análogo apresentou 50% de biodisponibilidade oral, sendo esta justificada, pela incapacidade de a P-gp o reconhecer como substrato. Pelo fato deste análogo não ser bombeado para fora das células pela P-gp apresenta uma biodisponibilidade superior ao paclitaxel, o que vem comprovar que a P-gp está relacionada com a baixa biodisponibilidade oral do paclitaxel. A formulação oral, quando comparada com o paclitaxel e o ortataxel intravenosos manifesta uma potência anti tumoral similar em vários modelos testados (Hennenfent e Govindan, 2005). Todavia, apresenta como principal limitação a sua toxicidade hematológica (Zabaleta *et al.*, 2012).

O ortataxel ainda se encontra em fase de ensaios clínicos para o tratamento do cancro do pâncreas avançado e do cancro da próstata (Qi *et al.*, 2012).

III.5 Larotaxel (XRP9881, RPR 109881A)

O larotaxel, é um análogo (7,8- ciclopropano) de origem semi-sintética, que tal como o docetaxel, é obtido a partir da 10- desacetilbatina III das agulhas do teixo (Figura 18).

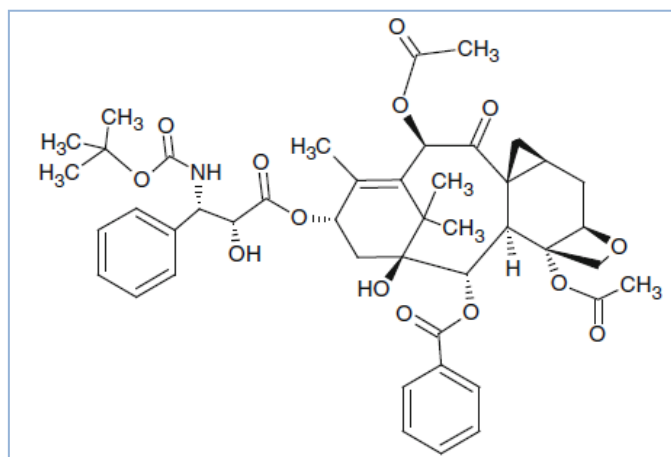


Figura 18: Estrutura química do larotaxel (retirado de Liu *et al.*, 2013).

Apresenta uma origem e um mecanismo de ação comum com os outros taxanos, porém com um espectro de ação mais alargado (ativo em linhagens de células tumorais resistentes ao docetaxel) e com um perfil de toxicidade diferente. Outras características comuns com o paclitaxel e o docetaxel são a lipofilia e a insolubilidade em água. Dada a sua lipofilia, não pode ser administrado de uma forma direta através de um injetável, (Yared e Tkaczuk, 2012; Warsch *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013).

O fato de ter atividade em tumores multirresistentes e de penetrar no SNC, faz dele um análogo interessante, por trazer benefícios em pacientes que apresentam metástases no cérebro (Hennenfent e Govindan, 2005). Esta propriedade de penetrar no SNC, provavelmente está relacionada com a sua baixa afinidade para a P-gp (Yared e Tkaczuk, 2012; Warsch *et al.*, 2012).

Este novo agente citotóxico ainda se encontra em desenvolvimento clínico, nomeadamente em estudos de fase II no combate ao cancro da mama metastático (Yared e Tkaczuk, 2012).

III.6 Cabazitaxel (Jevtana[®], XRP6258)

Em 2010, o Jevtana[®] foi aprovado pela FDA para o tratamento do cancro da próstata hormonorefractário metastizado, em doentes tratados previamente com docetaxel, apesar de se terem observado alguns efeitos adversos tais como neutropenia, neutropenia febril, leucopenia, anemia, diarreia, hipersensibilidade e astenia (Yared e Tkaczuk, 2012).

O cabazitaxel é um derivado semi-sintético do docetaxel que foi concebido por oferecer mais vantagens clínicas e farmacocinéticas que o docetaxel. Essas vantagens incluem a fraca afinidade para a P-gp (contribui para a resistência constitutiva e adquirida de células cancerosas aos taxanos) e a presença de atividade em estudos pré-clínicos *in vitro*, como também em modelos tumorais *in vivo* que expressem esta proteína, mostrando-se ativo contra tumores refractários e resistentes (Yared e Tkaczuk, 2012).

Foi avançado que a presença dos grupos metiloxi extra deste composto, é responsável pela capacidade do mesmo em atravessar a barreira hematoencefálica (Figura 19) (Yared e Tkaczuk, 2012).

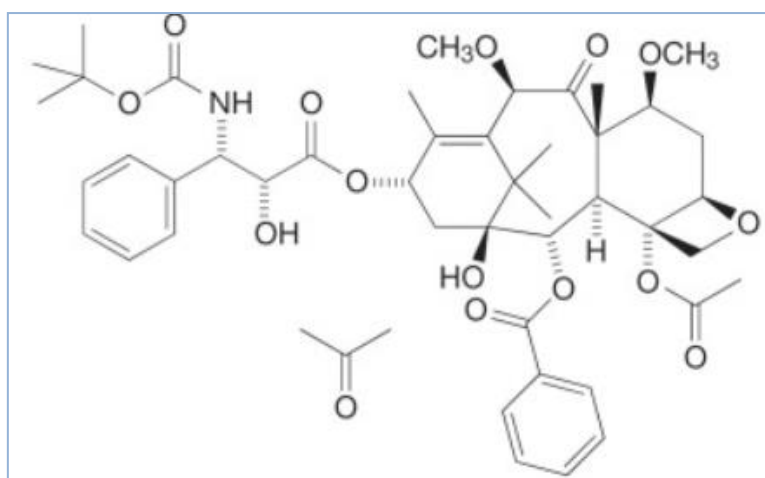


Figura 19: Estrutura química do cabazitaxel com os dois grupos metoxilo na posição C7 e C10 (Nightingale e Ryu, 2012).

A dose recomendada é de 25 mg/m² na administração em perfusão intravenosa durante uma hora a cada três semanas juntamente com 10 mg de prednisolona oral. O cabazitaxel em associação com prednisolona foi aprovado num estudo realizado em doentes (previamente tratados com docetaxel) no tratamento do cancro da próstata hormonorefractário metastizado (TROPIC, do inglês, *Treatment of Hormone-Refractory Metastatic Prostate Cancer Previously Treated with a Docetaxel-Containing Regimen*), de fase III. Os resultados indicaram que os pacientes com cancro da próstata metastático hormonorefractário tratados com Jevtana[®] associado à prednisolona tiveram um tempo médio de sobrevivência de 15,1 meses contra os 12,7 meses nos pacientes tratados com mitoxantrona e prednisolona (Yared e Tkaczuk, 2012).

Villanueva *et al.*, (2011), em estudos de fase I/II avaliaram a dose máxima tolerada, o perfil de segurança, farmacocinética e atividade do cabazitaxel juntamente com a capecitabina em doentes com cancro da mama metastático, anteriormente tratados com antraciclinas e taxanos. Este estudo revelou que o cabazitaxel em associação com capecitabina demonstrou atividade e perfil de toxicidade favoráveis.

A Tabela 1 apresenta uma síntese dos principais análogos do paclitaxel referidos, destacando algumas das suas vantagens.

Tabela 1: Os principais análogos e as suas vantagens face ao paclitaxel (adaptado de Hennenfent e Govindan, 2006; Yared e Tkaczuk, 2012).

Análogos	Potenciais indicações	Fase de desenvolvimento	Vantagens face ao paclitaxel
BMS-184476	Cancro do cólon Cancro do ovário	Fase I	<ul style="list-style-type: none"> • Maior atividade • Maior solubilidade • Ativo em células resistentes ao paclitaxel
DJ-927 (Tesetaxel®)	Melanoma Cancro da bexiga Cancro da mama Cancro gastro-esofágico CPNPC	Fase II	<ul style="list-style-type: none"> • Via de administração oral • Maior solubilidade • Ausência de neurotoxicidade • Ativo em células resistentes ao paclitaxel • Maior atividade
BMS-275183	CPNPC	Fase I	<ul style="list-style-type: none"> • Via de administração oral
Ortataxel	Cancro pâncreas Cancro da próstata	Fase II	<ul style="list-style-type: none"> • Via de administração oral • Ativo em células resistentes ao paclitaxel • Maior tolerabilidade • Maior eficácia terapêutica
XRP9881 (Larotaxel®)	CPNPC Cancro mama	Fase II	<ul style="list-style-type: none"> • Ativo em células resistentes ao paclitaxel • Atravessa a barreira hemato-encefálica
Cabazitaxel (Jevtana®, XRP6258)	Cancro mama Cancro da próstata	Aprovado pela FDA em 2010, no cancro da próstata	<ul style="list-style-type: none"> • Ativo em células resistentes ao paclitaxel • Atravessa a barreira hemato-encefálica

IV. Novos sistemas de entrega dos taxanos clássicos

Várias estratégias têm sido criadas com o objetivo de desenvolver formulações alternativas ao paclitaxel e ao docetaxel, implicando o uso de nanopartículas de albumina, novos análogos, pró-fármacos, emulsões poliglutamadas e lipossomas, de forma a evitar os efeitos adversos relacionados com o solvente, a ultrapassar a resistência atribuída a expressão da P-gp e acrescentar eficácia em relação aos taxanos convencionais (Hennenfent e Govindan, 2006).

Nesta última década, alguns taxanos, como o Abraxane[®] e Jevtana[®] foram aprovados pela FDA, bem como pela Agência Europeia do Medicamento (EMA, do inglês, European Medicines Agency), enquanto outros ainda se encontram em testes clínicos (Yared e Tkaczuk, 2012).

IV.1 Nanopartículas de albumina ligada ao paclitaxel (Abraxane[®])

A formulação de paclitaxel atualmente comercializada Abraxane[®], utiliza a proteína mais abundante no plasma, como veículo de entrega do fármaco (Feng e Mumper, 2013).

A preparação desta formulação envolve, um processo de homogeneização de alta pressão da proteína albumina do soro numa concentração semelhante à que se encontra no sangue com paclitaxel, originando uma suspensão coloidal de nanopartículas (Yared e Tkaczuk, 2012; Hennenfent e Govindan, 2006).

As vantagens que esta nova formulação apresenta em relação à formulação padrão, são o fato de não necessitar de recorrer ao solvente Cremophor EL, não ser tóxico e de a albumina por ser uma proteína do plasma e ser bem tolerada pelo sistema imunitário (Riggio *et al.*, 2011).

O Cremophor EL é responsável pela ocorrência de reações adversas, tais como reações de hipersensibilidade anafiláticas, hiperlipidémia podendo aumentar o risco de acidentes vasculares, neurotoxicidade e agregação de eritrócitos. Além destes efeitos biológicos adversos, também afeta a biodistribuição e a eliminação do fármaco por apresentar uma alta afinidade para os produtos decompostos das lipoproteínas do soro (Gelderblom *et al.*, 2001).

De referir que a neurotoxicidade induzida pelo Cremophor EL na formulação do paclitaxel, cujos principais efeitos são a desmielinização e a degeneração axonal, são reduzidos em cerca de dez vezes com o seu análogo semi-sintético o docetaxel por este apresentar na sua formulação o polissorbato 80 em vez do Cremophor EL (Gelderblom *et al.*, 2001).

Na formulação do Abraxane[®], como não é usado o Cremophor EL, já não é necessário recorrer à pré-medicação com corticosteroides nem anti-histamínicos H₁ e H₂ (Yared e Tkaczuk, 2012; Hennenfent e Govindan, 2005).

Além disso, a inserção do paclitaxel em pequenas microesferas de albumina, para formar o nab-paclitaxel, veio facilitar o transporte do paclitaxel até às células tumorais e aumentar a concentração final do paclitaxel no tumor (Yared e Tkaczuk, 2012; Hennenfent e Govindan, 2006).

A reconstituição do Abraxane[®] é feita num pequeno volume de soro fisiológico. A dose recomendada é de 260 mg/m², a cada três semanas, sendo o tempo de administração por via intravenosa de 30 minutos, bastante inferior aos 180 minutos na via de administração do paclitaxel-Cremophor EL (Yared e Tkaczuk, 2012).

Em 2005, esta formulação foi aprovada pela FDA para o tratamento do cancro da mama metastático. Esta aprovação baseou-se nos resultados de um estudo comparativo aleatório conduzido em doentes com cancro da mama metastático que receberam Abraxane[®] ou paclitaxel-Cremophor EL como tratamento. O Abraxane[®] revelou melhores taxas de resposta em comparação com o paclitaxel-Cremophor EL (33% vs 19%, respetivamente) e melhoria no tempo de progressão da doença (23 vs 16,9 semanas) (Yared e Tkaczuk, 2012).

O Abraxane[®] encontra-se também em fase de ensaios clínicos, envolvendo outros tipos de neoplasias tais como o CPNPC, cancro do ovário, cancro do pâncreas e cancro da cabeça e pescoço (Elsadek e Kratz, 2011).

IV.2 Paclitaxel polyglumex (PPX)

O paclitaxel polyglumex (Xyotax[®] ou CT-2103) é uma formulação que apresenta uma macromolécula biodegradável composta por um polímero de ácido glutâmico (solúvel

em água) ligado ao paclitaxel através de ligações éster (Figura 20) (Hennenfent e Govindan, 2006 e Luo *et al.*, 2012).

Devido à maior hidrossolubilidade desta molécula torna-se desnecessário usar na formulação o solvente tóxico, Cremophor EL (Hennenfent e Govindan, 2006).

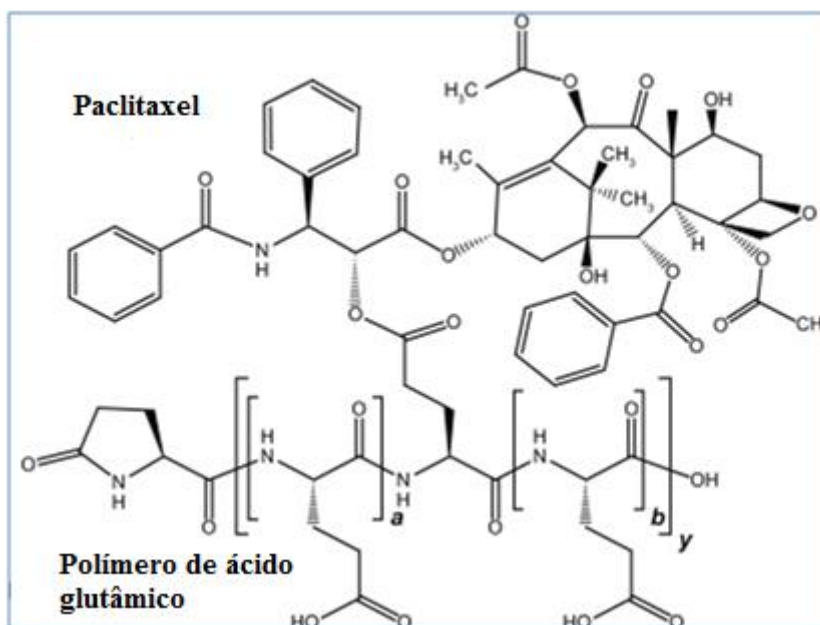


Figura 20: Representação esquemática do paclitaxel polyglumex (PPX). (adaptado de Chipman *et al.*, 2006).

A escolha deste transportador (polímero de ácido glutâmico) do paclitaxel teve como base a fácil hidrolisação do ácido glutâmico pelas enzimas lisossomais. O processo de hidrolisação é facilitado por o transportador apresentar vários grupos carboxilo que permitem estabelecer ligação com os fármacos. Além disso, o glutamato de sódio foi descrito como preventivo de algumas reações induzidas por paclitaxel, como neuropatias, permitindo doses maiores de paclitaxel (Luo *et al.*, 2012).

A aplicação deste pró-fármaco trouxe como vantagens, uma maior solubilidade do paclitaxel em água, uma maior permeabilidade do fármaco no tumor, uma concentração maior do paclitaxel no tumor (aumentando a sua ação), uma reduzida exposição do tecido normal ao fármaco livre e melhor tolerabilidade. Para além das vantagens inúmeras, o PPX também evita as bombas de efluxo que conferem resistência a múltiplos fármacos (Hennenfent e Govindan, 2006 e Luo *et al.*, 2012).

O paclitaxel polyglumex tem vindo a ser testado em vários estudos clínicos de fase II, nomeadamente no tratamento do cancro da mama metastático em associação com a capecitabina (Northfelt *et al.*, 2012) e no cancro esofágico (Dipetrillo *et al.*, 2012).

IV.3 DHA-paclitaxel (Taxoprexin[®])

O ácido docosahexaenóico (DHA) ligado ao paclitaxel (DHA-paclitaxel) é um pró-fármaco, conhecido também por Taxoprexin[®]. Nesta molécula, o ácido gordo natural, estabelece uma ligação éster com o oxigénio presente na posição 2' do paclitaxel (Figura 21) (Yared e Tkaczuk, 2012).

Este conjugado foi formulado com a intenção de testar a hipótese de que alguns ácidos gordos naturais são absorvidos rapidamente pelos tumores para uma utilização como precursores bioquímicos ou como fontes energéticas (Luo *et al.*, 2012). A veracidade deste fato traduzir-se-ia nalgumas vantagens tais como um maior tempo de circulação plasmática do fármaco e um maior período de exposição nas células tumorais, aumentando desta forma a ação farmacológica (Yared e Tkaczuk, 2012). Bradley *et al.* (2001), demonstraram que o DHA-paclitaxel apresentava menor toxicidade e maior atividade terapêutica que o paclitaxel. Uma das razões para este aumento de atividade terapêutica, deve-se, possivelmente, ao seu tempo de semivida longo (240 h) em comparação com o do paclitaxel (16 h).

A administração desta formulação ocorre por via endovenosa com um tempo de perfusão de duas horas num veículo de entrega que contem menos 81 % de Cremophor EL que a formulação clássica do paclitaxel. Além disso exibe uma elevada ligação à proteína do soro, o que se traduz numa redução significativa da *clearance* e do volume de distribuição, e consequentemente menores efeitos colaterais (Ojima *et al.*, 2012).

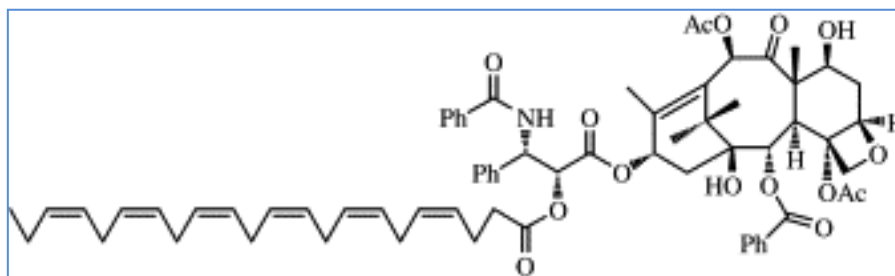


Figura 21: Estrutura química do DHA-paclitaxel (retirado de Bradley *et al.*, 2001).

O DHA-paclitaxel tem vindo a ser testado em diversos ensaios clínicos de fase II nomeadamente no cancro gastro-esofágico, no cancro do fígado como também de fase III no melanoma metastático, no cancro do CPNPC juntamente com a carboplatina (Unnati *et al.*, 2013; Seitz *et al.*, 2013; National Institutes of Health, 2010).

IV.4 GRN1005 (ANG1005)

Trata-se de um pró-fármaco (Figura 22), constituído por um péptido conjugado com o paclitaxel, ausente do solvente Cremophor EL, desenvolvido para tratar cancros metastáticos e primários do cérebro (Kurzrock *et al.*, 2012).

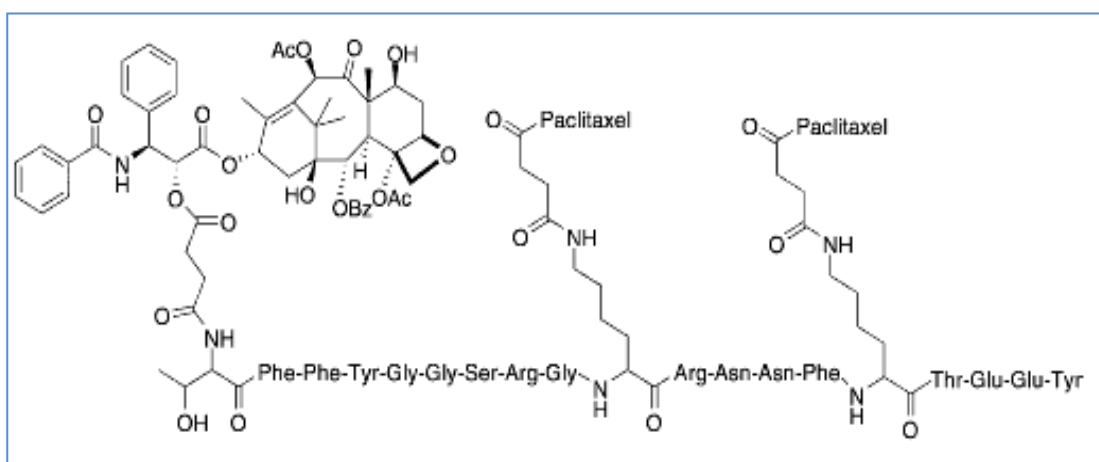


Figura 22: Estrutura química do GRN1005 (retirado de Ballatore *et al.*, 2012).

O GRN1005 consegue penetrar no cérebro, quando se liga à lipoproteína de baixa densidade relacionada com o recetor de proteína-1 (LRP-1, do inglês *low density lipoprotein receptor-related protein 1*) que está presente na barreira hemato-encefálica e em vários tipos de células tumorais, conseguindo desta forma atravessar esta barreira e entregar o paclitaxel. O GRN1005 torna-se ativo nas células tumorais, após o conjugado com o paclitaxel ser clivado por esterases presentes em compartimentos lisossomais, havendo libertação do paclitaxel que leva a uma paragem da mitose, e consequente, apoptose das células tumorais (Kurzrock, *et al.*, 2012).

Este pró-fármaco é insensível a P-gp tendo a capacidade de entregar o paclitaxel especificamente ao cérebro, sem ser expulso pelas bombas de efluxo como acontece com a formulação convencional do paclitaxel (Ballatore *et al.*, 2012). Assim, em comparação com o paclitaxel, esta formulação trouxe como vantagens aumentar a

concentração de paclitaxel no cérebro e fornecer especificamente paclitaxel nas células tumorais que sobre expressam a LRP-1 tanto no cérebro como nos órgãos viscerais (Kurzrock *et al.*, 2012).

Contudo o desenvolvimento deste fármaco foi descontinuado pela empresa biofarmacêutica Geron, porque não se confirmou a resposta num estudo de fase II em pacientes com metástases cerebrais decorrentes do cancro da mama (Krassowska, 2012).

IV.5 Sistema micelar polimérico contendo paclitaxel (Genexol-PM[®])

Ao longo das duas últimas décadas, muitos conjugados fármaco-polímero tem sido alvo de estudos no tratamento do cancro.

As micelas poliméricas são partículas coloidais formadas por co-polímeros anfifílicos (pequenas moléculas surfatantes) que, em meio aquoso, formam uma nanocápsula. Estas micelas apresentam no interior uma zona hidrofóbica que serve como reservatório do fármaco e no exterior uma cápsula hidrofílica que torna os polímeros solúveis em água, e desta forma no sangue, sendo a nanopartícula resultante, uma boa solução para administração intravenosa (Oerlemans *et al.*, 2010).

O Genexol-PM[®] é constituído por uma micela polimérica de paclitaxel, que consiste em dois co-polímeros em bloco: o poli- (etileno glicol) (PEG), que é útil como transportador não imunogénico e o núcleo formado por poli-(D, L-lactido) que permite a solubilização do fármaco hidrofóbico (Riggio *et al.*, 2011). Ensaio *in vitro* mostraram que o sistema polimérico evidencia uma citotoxicidade semelhante ao paclitaxel convencional na mesma dose, no tratamento dos vários cancros, tais como, o da mama, do ovário, CPNPC e do cólon. Quanto à sua biodistribuição demonstrou ser duas a três vezes superiores à do paclitaxel (Hennenfent e Govindan, 2006).

Relativamente aos ensaios *in vivo* a eficácia do Genexol-PM[®] demonstrou ser três vezes superior ao taxol. Outros ensaios, envolvendo o Genexol-PM[®] e a cisplatina, avaliaram a eficácia e a segurança no tratamento do CPNPC, mostrando uma atividade significativa (Hennenfent e Govindan, 2006).

A nova formulação permite assim, a administração segura de elevadas doses de paclitaxel em comparação com a formulação comum do paclitaxel, sem que acarrete aumento na toxicidade, nem necessidade de pré-medicação (Yared e Tkaczuk, 2012).

Esta formulação apresenta contudo alguns efeitos adversos limitativos de dose tais como mialgia, neutropenia e neuropatia (Hennenfent e Govindan, 2006; Yared e Tkaczuk, 2012).

IV.6 Lipossomas encapsulados com paclitaxel (LEP-ETU, EndoTAG-I e Lipusu[®])

Os lipossomas são estruturas esféricas, composta por uma bicamada de fosfolípidos no exterior, que rodeiam um meio interno aquoso. Este sistema não tóxico representa um sistema versátil e avançado de nanoentrega de compostos biologicamente ativos, tal como a molécula volumosa e hidrofóbica do paclitaxel (Gross, *et al.*, 2012).

A LEP-ETU é um novo sistema de entrega do paclitaxel, em que o fármaco é incorporado no interior de lipossomas (LEP, do inglês, *Liposome Entrapped Paclitaxel*). É uma formulação composta por uma mistura de fosfolípidos sintéticos e colesterol que elimina a necessidade de uso de Cremophor EL e que trouxe como vantagens, um aumento da solubilidade do fármaco, um aumento do efeito terapêutico, uma maior distribuição e também um aumento na dose máxima tolerada em comparação ao Taxol[®] (Yared e Tkaczuk, 2012). Num estudo de fase I, doentes com cancro em estado avançado incurável (cancro da mama, ovário e cólon) foram tratados com LEP-ETU por perfusão, obtendo-se uma resposta parcial ao tumor, uma estabilização do tumor em alguns pacientes e além disso, uma menor toxicidade face à do paclitaxel livre. Devido a estes resultados, avançou-se para ensaios clínicos de fase II no tratamento do cancro da mama metastático. Nestes ensaios clínicos de fase II dos 35 doentes avaliados, 16 obtiveram uma recessão do tumor (15 com recessão parcial e 1 com recessão total), 10 mantiveram a doença estável e 9 estiveram sujeitos a doença progressiva (Koudelka e Turánek, 2012).

Outra formulação contendo lipossomas encapsulado com paclitaxel, é o EndoTAG-I que contém um lípido sintético catiónico. Em relação à formulação anterior apresenta uma melhor capacidade para atingir seletivamente a vascularização do tumor. Esta formulação afeta a microcirculação do tumor ocasionando incapacidade funcional,

levando à oclusão seletiva dos vasos tumorais e permeabilidade microvascular, aumentando a eficácia terapêutica. Estas particularidades conferem também a este lipossoma catiónico a vantagem de apresentar propriedades antiangiogénicas em relação ao paclitaxel convencional, o que torna um forte candidato para o tratamento de doenças angiogénicas oculares (Yared e Tkaczuk, 2012; Gross, *et al.*, 2012).

O Endo-TAG-I encontra-se em ensaios clínicos de fase II no tratamento do cancro no pâncreas juntamente com a gemcitabina, no cancro hepático e no cancro da mama (Gross, *et al.*, 2012).

Uma terceira preparação contendo lipossomas encapsulados com paclitaxel liofilizados, Lipusu[®], foi aprovado nos Estados Unidos e na China. Esta formulação apresenta como vantagens, o fato do tamanho da partícula (150 nm) facilitar uma distribuição estável, apresentar uma alta eficácia na encapsulação, maior estabilidade e reduzir os riscos de hipersensibilidade relacionados com o paclitaxel convencional (Luo *et al.*, 2012; Koudelka e Turánek, 2012).

O Lipusu[®] demonstrou atividade no tratamento do cancro da mama, cancro do ovário, no cancro do ovário metastático e do CPNPC (Luo *et al.*, 2012).

IV.7 Emulsão de paclitaxel em vitamina E (Tocosol)

Trata-se de um injetável, que não contém o solvente Cremophor EL na sua constituição. Consiste numa emulsão que tem como base a vitamina E na fase de óleo e um inibidor da P-gp, de modo a diminuir a toxicidade. Esta formulação de emulsão de pequenas partículas de paclitaxel, tem potencial para sofrer absorção passiva através do tumor, permitindo que as nanopartículas permeiem e se acumulem facilmente nos tecidos tumorais. As principais vantagens desta formulação são a incorporação num pequeno volume de uma elevada concentração de paclitaxel, o que possibilita a perfusão do fármaco num curto espaço de tempo. Além disso, possui um perfil de segurança superior, permitindo uma maior eficácia anti tumoral (Hennenfent e Govindan, 2006; Constantinides *et al.*, 2004).

Estudos de fase I e II, mostraram que esta formulação é bem tolerada e eficaz quando administrada semanalmente em doentes com cancro refratário do ovário. As toxicidades hematológicas mais comuns, encontradas na fase II foi a neutropenia e anemia (Hennenfent e Govindan, 2006). Outros estudos de fase II envolveram a investigação da eficácia do tocosol em doentes com CPNPC, cancro do cólon-rectal e cancro da bexiga.

Em 2007 iniciaram-se estudos de fase III no cancro da mama metastático mas não se obteve grande resposta dos tumores e além disso também foi observado um maior número de reações adversas, quando comparado como paclitaxel convencional. Os ensaios clínicos com tocosol foram suspensos (Feng e Mumper, 2013).

IV.8 Microesferas (Paclimer)

De modo a ultrapassar as barreiras fisiológicas envolvidas no cancro inoperável do CPNPC, nas neoplasias do sistema nervoso central e no cancro da próstata avançado têm-se realizado esforços no desenvolvimento de micropartículas, como as microesferas de paclitaxel para uma terapia localizada (Wolinsky *et al.*, 2012; Hennenfent e Govindan, 2006). Além disso, o Paclimer tem sido utilizado na prevenção do cancro do ovário recorrente (Wolinsky *et al.*, 2012).

O Paclimer, é uma formulação injetável de paclitaxel encapsulado num polímero sob a forma de microsferas. Em estudos pré-clínicos, comparando a administração intraperitoneal com a sistémica na prevenção do cancro do ovário recorrente, revelou que a administração intraperitoneal é mais eficaz e não apresenta tantos efeitos colaterais (Wolinsky *et al.*, 2012; Guilford, 2013).

Ao contrário do que acontece com as outras terapias sistémicas, as microesferas Paclimer, são concebidas para facultar uma entrega localizada e controlada de paclitaxel nos tecidos tumorais (Wolinsky *et al.*, 2012).

A terapêutica local trouxe como vantagens uma libertação sustentada, uma maior concentração do fármaco no tumor e menos efeitos laterais (Hennenfent e Govindan, 2006).

IV.9 BIND-014

Em 2010 uma nova formulação de docetaxel, BIND-014, foi descrita. Emprega a combinação de uma nanopartícula polimérica e o docetaxel, que tem como alvo o antigénio membranar específico da próstata., uma proteína transmembranar que se encontra sobre expressa na superfície das células cancerosas da próstata e em novos vasos sanguíneos que alimentam uma grande variedade de tumores sólidos (Zhao e Astruc, 2012). Deste modo, pode libertar fármaco anticancerígeno de uma maneira controlada nas células de cancro da próstata e na neovascularização de tumores sólidos.

O BIND-014 é composto por um núcleo polimérico hidrofóbico biodegradável (permite o encapsulamento e a libertação sustentada do docetaxel), revestido por cadeias PEG que o protegem do sistema imunitário e por ligantes alvo que medeiam a interação entre as cadeias PEG e o antígeno presente na membrana específica da próstata (Zhao e Astruc, 2012).

Nos estudos pré-clínicos o BIND-014 demonstrou fornecer vinte vezes mais docetaxel aos tumores, do que a formulação convencional do docetaxel (Taxotere[®]). Em 2011 foi desenvolvido um estudo de fase I com o propósito de determinar a dose máxima tolerada, avaliar a atividade anti tumoral e a farmacocinética do BIND-014 em doentes com cancro. Este estudo revelou que se trata de uma formulação segura e bem tolerada em pacientes com cancros tumorais sólidos e metastáticos e além disso, evidenciou atividade anti tumoral (BIND, 2013a; Zhao e Astruc, 2012).

O BIND-014 encontra-se em fase de desenvolvimento, em estudos de fase II, pela empresa BIND, no tratamento do CPNPC e do cancro da próstata metastático resistente à castração (BIND, 2013b).

A Tabela 2 resume os novos sistemas de entrega do paclitaxel referidos anteriormente, destacando algumas das potenciais indicações.

Tabela 2: Novos sistemas de entrega dos taxanos (adaptado de Hennenfent e Govindan, 2006; Yared e Tkaczuk, 2012).

Formulações	Abraxane®	Xyotax®	Taxoprexin®	GRN1005	Genexol-PM®	LEP-ETU	EndoTAG-1	Paclimer	BIND-014	Lipusu®
Estratégia de entrega	Nanopartícula, partícula de albumina ligada ao paclitaxel	Pró-fármaco	Pró-fármaco	Pró-fármaco	Co – solvente	Lipossoma	Lipossoma	Microesferas	Nanopartícula polimérica ligada ao paclitaxel	Lipossoma
Potenciais indicações	Cancro mama CPNPC Cancro pâncreas Cancro ovário Cancro cabeça e pescoço Melanoma	CPNPC Cancro esofágico	CPNPC Melanoma Cancro gastroesofágica	Cancro cérebro e metastático Gliomas Cancro mama	CPNPC Cancro mama Cancro Gástrico Cancro do ovário	Cancro pancreático Cancro mama Cancro pulmão	Propriedades antiangiogénicas Cancro da mama	CPNPC Neoplasia do SNC Cancro da próstata avançado Cancro do ovário	Cancro da próstata CPNPC	Cancro da mama Cancro do ovário metastático CPNPC
Fase desenvolvimento	Aprovado pela FDA em 2005 (cancro mama)	Fase III	Fase III	Fase I,II,III	Fase II	Fase I	Fase II	Pré-clínica	Fase II	Aprovado nos Estados Unidos e China

V. Conclusão

Os taxanos, da qual fazem parte o paclitaxel e docetaxel, representam uma importante classe de agentes anti tumorais que interferem com o funcionamento dos microtúbulos, conduzindo ao bloqueio do ciclo celular e, conseqüentemente, à morte celular por apoptose.

A descoberta da atividade anticancerígena do paclitaxel foi um importante marco para o tratamento oncológico, constituindo um ponto de partida para o desenvolvimento de novas formulações e derivados do mesmo. O paclitaxel foi descoberto pela primeira vez na década de 60 pelo NCI num *screening* realizado para identificar compostos naturais com atividade antineoplásica. No entanto, a sua evolução clínica apresentou algumas dificuldades, devido à baixa solubilidade da molécula e ao escasso fornecimento a partir da casca do teixo. De modo a ultrapassar esta limitação, foi desenvolvido o docetaxel, um composto semi-sintético produzido a partir da 10-desacetilbacatina III. Atualmente o paclitaxel e docetaxel são agentes antineoplásicos muito usados na clínica no tratamento de uma ampla gama de doenças neoplásicas, incluindo cancro do pulmão, cancro da mama, cancro da próstata, sarcoma de Kaposi's, cancro gástrico, cancro do esôfago, cancro da bexiga e de outros carcinomas. No entanto, ambos ocasionam vários problemas clínicos, devido à sua reduzida solubilidade, elevada toxicidade limitante da dose (mielossupressão, neurotoxicidade), desenvolvimento de reações alérgicas e, possibilidade de desenvolvimento de resistência aos fármacos. Vários destes efeitos estão relacionados com o uso dos solventes utilizados para diluição dos agentes antineoplásicos, nomeadamente o Cremophor EL (paclitaxel) e o Tween 80 (docetaxel).

Assim, de modo a evitar a necessidade de uso do Cremophor EL ou Tween 80, bem como ultrapassar a resistência do tumor aos taxanos tem-se realizado esforços para desenvolver novos análogos com menor toxicidade e com uma melhor atividade anti tumoral, bem como novos sistemas de entrega dos taxanos clássicos.

Em 2005, a FDA aprovou o Abraxane®, nanopartícula de albumina ligada ao paclitaxel, para o tratamento de metástases no cancro da mama. Novos sistemas de entrega

alternativos têm sido, e continuam a ser investigados, envolvendo a utilização de nanopartículas poliméricas, pró-fármacos, emulsões, lipossomas e microesferas.

Estas formulações apresentam algumas vantagens em comum, tais como o fato de conferirem maior hidrosolubilidade ao paclitaxel, não necessitando de recorrer ao solvente Cremophor EL, serem bem toleradas pelo sistema imunitário, apresentarem tempos de infusão inferiores e permitirem atingir uma concentração maior do paclitaxel no tumor (aumentando a sua ação). Para além disso, contribuem para a redução da exposição do tecido normal ao fármaco livre e para uma maior permeabilidade do fármaco no tumor. Além destas vantagens algumas formulações, como é o caso do PPX, combatem a resistência do tumor a múltiplos fármacos. O pró-fármaco GRN-1005 destaca-se por permitir a entrega do paclitaxel especificamente ao cérebro, sem ser expulso pelas bombas de efluxo, como acontece com a formulação convencional do paclitaxel.

Uma nova formulação foi desenvolvida envolvendo o docetaxel, o BIND-014. Esta formulação envolve uma nanopartícula polimérica com o docetaxel, para a libertação do fármaco anticancerígeno de uma maneira sustentada nas células de cancro da próstata e na neovasculatura de tumores sólidos.

De entre os novos análogos, o BMS-275183, DJ-927 e o ortataxel foram desenvolvidos com objetivo de aumentar a biodisponibilidade oral, aumentando, assim, a perspetiva do uso de taxanos orais no tratamento, num futuro próximo, permitindo uma administração mais cómoda para o paciente, bem como redução nos custos da administração e facilidade no tratamento a longo prazo sendo, por isso, preferível à via de administração intravenosa.

Contudo, a maioria destes compostos embora seja muito promissora apresenta ainda algumas limitações, que têm impedido a sua aprovação por parte da FDA e da EMA, pelo que esta continua a ser na atualidade uma área de investigação muito importante.

Bibliografia

Altmann, K.H., Gertsh, J. (2007). Anticancer drugs from nature- natural products as a unique source of new microtubule-stabilizing agents. *The Royal Society of Chemistry*, 24, pp. 327-357.

ACS, American Cancer Society (2013). What causes cancer? [Em linha]. Disponível em <<http://www.cancer.org/cancer/cancercauses/index>>. [Consultado em 21/01/2013].

Ballatore, C. *et al.* (2012). Microtubule stabilizing agents as potential treatment for alzheimer's disease and related neurodegenerative tauopathies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, pp. 8979-8996.

Bind (2013a). BIND therapeutics presents positive clinical data at the AACR 2013 annual meeting for lead accurin candidate, BIND-014, in cancer patients. [Em linha]. Disponível em <<http://www.bindtherapeutics.com/newsevents/releases/2013%200409%20BIND014AACR.html>>. [Consultado em 09/09/2013].

Bind (2013b). BIND-014. [Em linha]. Disponível em <<http://bindtherapeutics.com/pipeline/BIND014.html>>. [Consultado em 09/09/2013].

Boulikas, T., Tsogas, I. (2008). Microtubule-targeted antitumor drugs: chemistry, mechanisms and nanoparticle formulations. *Gene Therapy and Molecular Biology*, 12, pp. 313-357.

Bradley, M. O. *et al.* (2001). Tumor targeting by conjugation of DHA to paclitaxel. *Journal of Controlled Release*, 74, pp. 233-236.

Brandão, H. *et al.* (2010). Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. *Quimica Nova*, 33 (6), pp. 1359-1369.

Bray, F. (2012). Human development central to changing cancer burden. [Em linha]. Disponível em <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2012/pdfs/pr212_E.pdf>. [Consultado em 9/12/2012].

Business Wire (2010). Genta's Tasetaxel Granted Fast Track Designation by FDA for Advanced Gastric Cancer [Em linha]. Disponível em

<<http://www.businesswire.com/news/home/20100406005337/en/Genta%E2%80%99s-Tesetaxel-Granted-Fast-Track-Designation-FDA>>. [Consultado em 06/09/2013].

Chabner, B.A., Brunton, L.L. (2005). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11ª edição. Nova Iorque, McGraw-Hill, pp. 1315–1403.

Chipman, S. D. *et al.* (2006). Biological and clinical characterization of paclitaxel poliglumex (PPX, CT-2103), a macromolecular polymer–drug conjugate. *International Journal of Nanomedicine*, 1(4), pp. 375-383.

Constantinides, P. P., Tustian, A., Kessler, D. R. (2004). Tocol emulsions for drug solubilization and parenteral delivery. *Drug Delivery Reviews*, 56, pp. 1243-1255.

Corrêa, A. G. (1995). Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. *Química Nova*, 18 (5), pp. 460-467.

Cragg, G. M. (1998). Paclitaxel (Taxol): a success story with valuable lessons for natural product drug discovery and development. *Medical Research Review*, 18 (5), pp. 315–331.

Cragg, G. M *et al.* (1993). The taxol supply crisis. New NCI policies for handling the large-scale production of novel natural product anticancer and anti-hiv agents. *Journal Natural Products*, 56, pp. 1657–1668.

Denis J-N, *et al.* (1988). A highly efficient, practical approach to natural taxol. *Journal of The American Chemical Society*, 110, pp. 5917-5919.

Desai, A., Mitchison, T. J. (1997). Microtubule polymerization dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13, pp. 83–117.

DeVita, V. T., Hellman, S., Rosenberg, S. A. (2008). Principles of Medical Oncology. In: DeVita, V. T., Hellman, S., Rosenberg, S. A. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8ª edição. Estados Unidos da América, Lippincott-Williams & Wilkin, pp.337-343.

Dipetrillo, T. *et al.* (2012). Neoadjuvant paclitaxel poliglumex, cisplatin, and radiation for esophageal cancer: a phase 2 trial. *American Journal of Clinical Oncology*, 35(1), pp. 64-67.

Elsadek, B., Kratz, F. (2011). Impact of albumin on drug delivery – new applications on the horizon. *Journal of Controlled Release*, 157, pp. 4-28.

European Commission (2012). Major and chronic diseases – Cancer. [Em linha]. Disponível em
<http://ec.europa.eu/health/major_chronic_diseases/diseases/cancer/index_en.htm#fragment0>. [Consultado em 10/12/2012].

Expósito, O. *et al.* (2009). Biotechnological production of taxol and related taxoids: current state and prospects. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9, pp. 109-121.

Fang, W. S., Liang, X. T. (2005). Recent progress in structure activity relationship and mechanistic studies of taxol analogues. *Medicinal Chemistry*, 5, pp. 1-12.

Feng, L., Mumper, R. J. (2013). A critical review of lipid-based nanoparticles for taxane delivery. *Cancer Letters*, 334, pp. 157-175.

Fitzpatrick, F. A., Wheeler, R. (2003). The immunopharmacology of paclitaxel (Taxol), docetaxel (Taxotere), and related agents. *International Immunopharmacology*, 3, pp. 1699-1714.

Gan, P. P. *et al.* (2010). Microtubule dynamics, mitotic arrest, and apoptosis: drug-induced differential effects of β III-tubulina. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9 (5), pp. 1339-1348.

Gelderblom, H., *et al.* (2001). Cremophor EL: the drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation. *European Journal of Cancer*, 37, pp. 1590-1598.

Ginsberg, J. (s/d). The discovery of camptothecin and taxol. [Em linha]. Disponível em
<http://portal.acs.org/portal/acs/corg/content?_nfpb=true&_pageLabel=PP_ARTICLE_MAIN&node_id=926&content_id=CTP_004450&use_sec=true&sec_url_var=region1#P58_16453>. [Consultado em 17/11/2012].

Gligorov, J., Lotz, J. (2004). Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences. *The Oncologist*, 9 (2), pp. 3-8.

GLOBOCAN (2008). The Globocan Project. [Em linha]. Disponível em
<<http://globocan.iarc.fr/>>. [Consultado em 10/12/2012].

Gross, N. *et al.* (2012). Choroidal neovascularization reduced by targeted drug delivery with cationic liposome-encapsulated paclitaxel or targeted photodynamic therapy with verteporfin encapsulated in cationic liposomes. *Molecular Vision*, 19, pp. 54-61.

Guilford (2013). Guilford Announces IND Filing of New Polymer-Oncology Candidate, PACLIMER(TM) Microspheres. [Em linha]. Disponível em <<http://www.prnewswire.com/news-releases/guilford-announces-ind-filing-of-new-polymer-oncology-candidate-paclimertm-microspheres-77637657.html>>. [Consultado em 20/09/2013].

Haldar, S., Chintapalli, J., Croce, C. M. (1996). Taxol induces bcl-2 Phosphorylation Death of Prostate Cancer Cells. *Cancer Research*, 56, pp. 1253-1255.

He, L. *et al.* (2000). A common pharmacophore for taxol and the epothilones based on the biological activity of a taxane molecule lacking a C-13 side chain. *Biochemistry*, 39, pp. 3972-3978.

He, L., Orr, G. A., Horwitz, S. B. (2001). Novel molecules that interact with microtubules and have functional activity similar to Taxol. *Drug Discovery Today*, 6 (22), pp. 1153-1164.

Hennenfent, K., Govindan, R. (2006). Novel formulations of taxanes: a review. Old wine in a new bottle? *Annals of Oncology*, 17(5), pp.735–749.

Hidalgo, M. *et al.* (2001). Phase I and pharmacokinetic study of BMS-184476, a taxane with greater potency and solubility than paclitaxel. *Journal of Clinical Oncology*, 19 (9), pp. 2493-2503.

Huang, Q. L. *et al.* (2001). Engineering *Escherichia Coli* for the synthesis of taxadiene, a key intermediate in the biosynthesis of taxol. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 9 (9), pp. 2237–2242.

INCTR, International Network for Cancer Treatment and Research (2013). Cancer in developing countries. [Em linha]. Disponível em <<http://www.inctr.org/about-inctr/cancer-in-developing-countries/>>. [Consultado em 28/1/2013].

Ismael, G. F. V. *et al.* (2008). Novel cytotoxic drugs: old challenges, new solutions. *Cancer Treatment Reviews*, 34(1), pp. 81-91.

Jennewein, S., Croteau, R. (2001). Taxol: biosynthesis, molecular genetics, and biotechnological applications. *Applied Microbial Biotechnology*, 57(2001), pp. 13-19.

Jordan, M. A., Wilson, L. (2004). Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature Reviews Cancer*, 4, pp. 253–265.

Kamath, K. *et al.* (2005). β III-tubulin induces paclitaxel resistance in association with reduced effects on microtubule dynamic instability. *Journal Biological Chemistry*, 280, pp. 12902–12907.

Kingston, D. G. I. (2001). Taxol, a molecule for all seasons. *Chemical Communications*, pp. 867-880.

Kingston, D. G. I. (2005). Taxol and its analogs. *In*: Cragg, G.M., Kingston D.G.I, Newman D.J. *Anticancer Agents from Natural Products*. Florida, CRC Press, pp 89-122.

Kingston, D. G. I. (2007). The shape of things to come: structural and synthetic studies of taxol and related compounds. *Phytochemistry*, 68, pp. 1844-1854.

Kingston, D. G. I. (2008). A natural love of natural products. *The Journal of Organic Chemistry*, 73, pp. 3975-3984.

Koudelka, S., Turánek, J. (2012). Liposomal paclitaxel formulations. *Journal of Controlled Release*, 163, pp. 322-334.

Kraitzer, A. *et al.* (2012). Mechanisms of antiproliferative drug release from bioresorbable porous structures. *Journal of Biomedical Research.Part*, 101(5), pp. 1302-1310.

Krassowska, A. (2012). Geron discontinues GRN1005 and restructures to focus on imetelstat development in hematologic malignancies and solid tumors with short telomeres. [Em linha]. Disponível em <<http://ir.geron.com/phoenix.zhtml?c=67323&p=irol-newsArticle&ID=1763907&highlight=>>>. [Consultado em 08/09/2013].

- Kurzrock, R. *et al.* (2012). Safety, pharmacokinetics, and activity of GRN1005, a novel conjugate of angiopep-2, a peptide facilitating brain penetration, and paclitaxel, in patients with advanced solid tumors. *Molecular Cancer Therapeutics*, 11(2), pp. 308-316.
- Liu, Z. *et al.* (2013). Pharmacokinetics and tissue distribution of larotaxel in rats: comparison of larotaxel-loaded microsphere with larotaxel-solution. *Cancer, Chemotherapy and Pharmacology*, 71, pp. 1131-1139.
- Luo, C. *et al.* (2012). Advances of paclitaxel formulations based on nanosystem delivery technology. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 12, pp. 434-444.
- Ma, X., Wang, Z. (2009). Anticancer drug discovery in the future: an evolutionary perspective. *Drug Discovery Today*, 14 (23/24), pp. 1136-1142.
- Magnani, M. *et al.* (2009). Possible binding site for paclitaxel at microtubule pores. *Journal the Federation of European Biochemical Societies*, 276, pp. 2701-2712.
- Marchetti, P. *et al.* (2002). Weekly administration of paclitaxel: theoretical and clinical basis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 44, pp. 3-13.
- McGuire, W. P. *et al.* (1989). Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced epithelial neoplasms. *Annals of Internal Medicine*, 111, pp. 273–279.
- Mercklé, L. *et al.* (2001). Semisynthesis of D- ring modified taxoids: novel thia derivatives of docetaxel. *Journal Organic Chemistry*, 66, pp. 5058-5065.
- Minckwitz, G. *et al.* (2013). Optimizing taxane use in MBC in the emerging era of targeted chemotherapy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 3(85), pp. 315-331.
- Mollinedo, F., Gajate, C. (2003). Microtubules, microtubule interfering agents and apoptosis. *Apoptosis: an international journal on programmed cell death*, 8(5), pp. 413–450.
- Morris, P. G., Fournier, M. N. (2008). Microtubule active agents: beyond the taxane frontier. *Clinical Cancer Research*, 14, pp. 7167-7172.

Murray, S. *et al.* (2012). Taxane resistance in breast cancer: mechanisms, predictive biomarkers and circumvention strategies. *Cancer Treatment Reviews*, 38, pp. 890-903.

National Institutes of Health (2010). Taxoprexin plus carboplatin treatment for advanced lung cancer. [Em linha]. Disponível em <<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00243867?term=dha-paclitaxel&rank=8>>. [Consultado em 08/09/2013].

Newman, D. J., Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal Natural Products*, 70, pp. 461–477.

Nightingale, G., Ryu, J. (2012). Cabazitaxel (Jevtana): a novel agent for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal Pharmacy and Therapeutics*, 37(8), pp. 440-442.

Nobili, S. *et al.* (2009). Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research*, 59, pp. 365-378.

Northfelt, D. W. *et al.* (2012). Phase 2 trial of paclitaxel polyglumex with capecitabine for metastatic breast cancer. *American Journal of Clinical Oncology*, 26,(15), p.1063. .

Oerlemans, C. *et al.* (2010). Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release. *Pharmaceutical Research*, 27(12), pp. 2569-2589.

Ojima, I. *et al.* (2012). Tumor-targeting drug delivery of new-generation taxoids. *Future Medicinal Chemistry*, 4(1), pp. 33-50.

O'Shaughnessy, J. A., Cowan, K. H. (1994). Current status of paclitaxel in the treatment of breast cancer. *Breast Cancer Research Treatment*, 33, pp. 27-37.

Pan, L., Chai, H., Kingston, D. (2009). The continuing search for antitumor agents from higher plants. *Phytochemistry Letters*, 3(1), pp. 1-8.

Pasquier, E., Kavallaris, M. (2008). Microtubules: a dynamic target in cancer therapy. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 60(3), pp. 165-170.

- Qi, J. *et al.* (2012). Recent Progress in the Chemistry and Biology of Paclitaxel (TaxolTM) and Related Taxanes. *In: Cechinel-Filho, V. (Ed). Plant Bioactives and Drug Discovery: Principles, Practice, and Perspectives*, New Jersey, Wiley, pp. 263–307.
- Riggio, C. *et al.* (2011). Nano-oncology: clinical application for cancer therapy and future perspectives. *Journal of Nanomaterials*, pp. 1-10.
- Rowinsky, E., Calvo, E. (2006). Novel agents that target tubulin and related elements. *Seminars in Oncology*, 33(4), pp. 421–435.
- Saif, M. W. *et al.* (2011). Tese-taxel, a new oral taxane, in combination with capecitabine: a phase I, dose-escalation study in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*, 68, pp. 1565-1573.
- Schiff, P. B., Fant, J., Horwitz, S. B. (1979). Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature*, 277, pp. 665–667.
- Seitz, J. *et al.* (2013). Fluorine-containing taxoid anticancer agents and their tumor-targeted drug delivery. *Journal of Fluorine Chemistry*, 152, pp. 157-165.
- Shionoya, M. *et al.* (2003). DJ-927, a novel oral taxane, overcomes P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in vitro and in vivo. *Cancer Science*, 94(5), pp.459-466.
- Singla A. K. *et al.* (2001). Paclitaxel and its formulations. *International Journal of Pharmaceuticals*, 235 (2002), pp. 179-192.
- Souza, M. V. N. (2004). Novos produtos naturais capazes de atuar na estabilização de microtúbulos, um importante alvo no combate ao câncer. *Química Nova*, 2 (27), pp. 308-312.
- Spigel, D. R., Greco, F. A. (2008). What is the role of novel taxanes in non–small-cell lung cancer? *Clinical Lung Cancer*, 3(9), pp. S116-S121.
- Srivastava, V. *et al.* (2005). Plant-based anticancer molecules: a chemical and biological profile of some important leads. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13, pp. 5892-5908.

Strobel, G. A. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, 5 (6), pp. 535 – 544.

Surapaneni, M. S. *et al.* (2012). Designing paclitaxel drug delivery systems aimed at improved patient outcomes: current status and challenges. *International Scholarly Research Network Pharmacology*, pp. 1-15.

ten Tije, A. J. *et al.* (2003). Pharmacological effects of formulation vehicles: implications for cancer chemotherapy. *Clinical Pharmacokinetics*, 42, pp. 665-685.

Unnati *et al.* (2013). Novel anticancer agents from plant sources. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 11(1), pp. 0016-0023.

Varma, A., Padh, H., Shrivastava N. (2011). Andrographolide: a new plant-derived antineoplastic entity on horizon. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 815390, pp. 1-9.

Villanueva, C. *et al.* (2011). A multicentre dose-escalating study of cabazitaxel (XRP6258) in combination with capecitabine in patients with metastatic breast cancer progressing after anthracycline and taxane treatment: A phase I/II study. *European Journal of Cancer*, 7 (47), pp. 1037-1045.

Yared, J. A., Tkaczuk, K. HR. (2012). Update on taxane development: new analogs and new formulations. *Drug Design, Development and Therapy*, 6, pp. 371-384.

Ye, V. M., Bhatia, S. K. (2012). Metabolic engineering for the production of clinically important molecules: Omega-3 fatty acids, artemisinin, and taxol. *Journal Biotechnology*, 7, pp. 20-33.

Wall, M. E., Wani, M. C. (1996). Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *Journal of Ethnopharmacology*, 51, pp. 239-254.

Walsh, G. (1998). Pharmaceuticals, biologics and biopharmaceuticals. *In: Walsh, G. Biopharmaceuticals: Biochemistry and biotechnology*. Nova York, John Wiley & Sons, pp. 27-29.

Warsch, S., Montero, A. J., Glück, S. (2012). Novel cytotoxic agents in the treatment of metastatic breast cancer. *Current Breast Cancer Reports*, 4, pp. 75-82.

WHO, World Health Organization (2002). National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. 2ª edição. Geneva.

WHO, World Health Organization (2012). Cancer. [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. [Consultado em 10/12/2012].

WHO, World Health Organization (2008). Are the number of cancer cases increasing or decreasing in the world? [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/features/qa/15/en/index.html>>. [Consultado em 10/12/2012].

Wolinsky, J. B., Colson, Y. L., Grinstaff, M. W. (2012). Local drug delivery strategies for cancer treatment: Gels, nanoparticles, polymeric films, rods, and wafers. *Journal of Controlled Release*, 159, pp. 14-26.

Zabaleta, V. *et al.* (2012). Oral administration of paclitaxel with pegylated poly(anhydride) nanoparticles: Permeability and pharmacokinetic study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81, pp. 514-523.

Zhang, L., Demain, A. L. (2005). Case studies in natural-product optimization: novel antitumor agents derived from *Taxus brevifolia* and *Catharanthus roseus*. *In*: Zhang, L. e Demain, A.L. *Natural Products: drug discovery and therapeutic medicine*. Totowa, Human p.180.

Zhao, P., Astruc, D. (2012). Docetaxel Nanotechnology in Anticancer Therapy. *ChemMedChem*, 7, pp. 952-972.

Zhou, X. *et al.* (2010). A review: recent advances and future prospects of taxol-producing endophytic fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, pp. 1707–1717.